

Contributo para o estudo do medronheiro (*Arbutus unedo* L.): caracterização morfológica de clones e fisiologia pós-colheita do fruto

Jorge Rosário Anastácio

Dissertação para obtenção do Grau Mestre em
Engenharia Agronómica

Orientador: Professora Adjunta Maria Justina Bárbara Franco

Co-orientador: Professora Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira

Júri:

Presidente: - Doutor José Luís Monteiro Teixeira, Professor Associado do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais:

- Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira, Professora Associada com agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa;

- Doutora Mariana da Silva Gomes Mota, Investigadora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Ao João Pedro Dinis

Agradecimentos

Os meus primeiros agradecimentos são para os meus pais, por tudo.

Os restantes são para todas as pessoas que contribuíram, de variadas formas, para o desenvolver desta tese. Dentro destas, há algumas que, pelos importantes contributos físicos e/ou anímicos não posso deixar de referir:

Às Professoras Cristina Oliveira e Justina Franco, minhas orientadoras, pelo apoio, motivação e total disponibilidade.

Aos produtores Américo Lourenço e Jorge Simões, pelo fornecimento do material vegetal e pela partilha de informações, experiências e lições de vida.

À Engenheira Mariana Mota e à Doutora Cláudia Sanchez pelo apoio no material e métodos.

À Fernanda Vargues e família pela hospitalidade e amizade.

Aos meus amigos Luís Cordeiro, Miguel Lourenço, Tiago Cerejo e Sofia Conde, pelas preciosas ajudas.

Aos restantes amigos e colegas, pelos bons momentos que partilhamos.

Este trabalho teve o Apoio da Fundação para a Ciência e Tecnologia através do Projecto PTDC/AGR-FOR/3746/2012 – “*Arbutus unedo plants and products quality improvement for the agro-forestry sector*” e do Programa de Desenvolvimento Rural - PRODER, medida 4.1, Cooperação para a Inovação, Ref.^a 43748 – “*O Medronho - Conversão da planta silvestre numa espécie fruteira rentável*”.

Resumo

O presente trabalho teve dois objetivos que ambicionam contribuir para um maior conhecimento de *Arbutus unedo*. Pretendeu-se caracterizar morfológicamente diferentes clones instalados num pomar comercial em Oleiros, Castelo Branco e acompanhar o ciclo vegetativo. Outro objetivo foi estudar o comportamento fisiológico do fruto no período pós-colheita de forma a melhor avaliar a evolução da sua maturação.

Os clones apresentam diferenças significativas ao nível da área seccional do tronco e altura da copa. As folhas apresentam diferenças significativas ao nível do comprimento (C), largura (L), relação C/L, pecíolo e espessura.

A percentagem de árvores com frutos, o número médio de infrutescências, e de frutos e rebentos por infrutescência foram significativamente diferentes. Os frutos em diferentes estados de maturação apresentaram diferenças significativas em relação às características de firmeza, luminosidade, tonalidade e saturação. Com exceção dos medronhos verdes, todos os estados de maturação apresentaram aumento do teor de sólidos solúveis, pH e diminuição da acidez titulável. Não foi possível encontrar uma tendência marcada de evolução da vitamina C e do teor de fenóis totais em pós-colheita.

Considerando o anterior, a taxa de respiração e a produção de etileno, sugere-se que, embora o medronho não seja um fruto climatérico "típico", está mais próximo de um comportamento climatérico do que não-climatérico.

Palavras-chave: *Arbutus unedo*, características morfológicas, comportamento climatérico, clone, etileno, pós-colheita

Abstract

This study had two objectives that aim to contribute to a greater knowledge of *Arbutus unedo*. The first objective was to characterize morphologically different clones installed in a commercial orchard in Oleiros, Castelo Branco, in order to detect the morphological differences between them, as well as to monitor the vegetative cycle. The second objective was to study the physiological behavior of the fruit in the post-harvest period, in order to better assess the evolution of the maturation.

The clones showed significant differences in the cross sectional area of the trunk and in the canopy height. Leaves showed significant differences in the length (L), width (W), L/W ratio, petiole length and leaf thickness.

The percentage of trees with fruits, the average number of inflorescences and the number of fruits and shoots per inflorescence were significantly different. Fruits at different stages of maturity showed significant differences in firmness, L, hue and saturation. Except for the green fruits, all states of maturation showed an increase in the soluble solids content and pH while titratable acidity decreased. It was not found a marked evolution of vitamin C and total phenolic contents in the postharvest period.

Considering the above, as well as the rate of respiration and ethylene production rate of the fruits, we suggest that although it is not a typical climacteric fruit, its postharvest behavior is closer to the climacteric fruits than of the nonclimateric fruits.

Keywords: *Arbutus unedo*, climacteric, clones, ethylene, morphological characteristics, post-harvest strawberry tree fruit.

Extended abstract

This study had two objectives that aimed to contribute to a greater knowledge of *Arbutus unedo*. One objective was to characterize morphologically different clones installed in 2007 in a commercial orchard in Oleiros, Castelo Branco, in order to detect differences between them, as well as monitor the vegetative cycle. Another objective was to study the physiological behavior of the fruit in the post-harvest period in order to better assess the evolution of their maturation.

In the orchard there were four clones (AL1, AL2, AL3 and C1) that were micropropagated in Escola Superior Agrária de Coimbra, and strawberry trees that were obtained by seminal propagation in a forest nursery (SE). These plants were fertilized when they were planted with 30 g of a slow release fertilizer 9:23:14 (4 0.1); N P K (MgO; B).

In order to analyze the behavior of nursery mycorrhized strawberry trees, three treatments of the clone C1 were submitted to different mycorrhizal treatments (C1T – control plants; C1M - mycelium in vitro produced; C1C - dry sporocarps mixed in water) that were not fertilized when planted.

There was no statistical difference in the volume of tree top, average of 257.7 dm³. Tree top height was higher in AL1 and C1 clones, and lower in AL3. Sectional area of trunk was statistically higher in AL3 and lower in C1T.

Leaves showed statistically relevant differences between the clones. AL1 leaves have the biggest limb, petiole and thickness, in average, while C1 was the smallest limbs, petiole and thickness. Length/width ratios were lower in C1 leaves indicating rounder leaves than the other clones. AL2 and AL3 showed intermediate values between AL1 and C1, showing also statistically important differences between them.

From these results it seems that limb size has a direct relationship with leaf thickness, which may be related with different strategies used by the different clones to save water at leaf level.

Micropropagated clones showed a higher percentage of trees with fruits than the trees produced by seminal way (SE), which suggests an early production of fruits by micropropagated strawberry trees. C1M and C1C showed a higher percentage of trees with fruits than control treatment (C1T), which suggests a better fruiting performance of nursery mycorrhized plants.

AL1 and C1 showed the highest percentage of trees with fruits. AL1 showed also the highest average number of sprouts per inflorescence. The highest average number of fruits per inflorescence belongs to C1C, followed by C1M. C1T (control

treatment) showed lower average number of fruits per inflorescence as well as a lower average number of sprouts per inflorescence than C1 plantlets submitted to nursery mycorrhizal treatments (C1M and C1C), which suggests that mycorrhizal nursery treatments may promote more abundant fruiting and vegetative growing. In this study we did not find any marked relationship between number of fruits and number of spring sprouts in the same inflorescence.

Spring sprouts of the different clones were different at color level, with AL2 and AL3 showing brown color on their sprouts, while AL1's and C1's sprouts were predominantly green.

Our experiments also showed that the strawberry trees in the orchard conditions have a marked tendency to fructify in the south and west sides of treetop, rather than north and east sides.

In order to study the ripening process of strawberry tree fruits we have made two experiences. In the first one we harvested some yellow, light red, and red fruits in a commercial orchard near Estreito, Oleiros. In the second one we pick up green, yellow and red fruits in a natural settlement near Figueiredo, Porto de Mós.

In physical analyses carried on, all strawberry tree fruits showed a decrease in average weight, which possibly may be related with some water loss in post-harvest.

With exception of green fruits, strawberry tree fruits from both experiences experienced a marked decrease in firmness and in color parameters lightness (L^*) and Hue angle, confirming that strawberry tree fruits became softer, darker and redder in post-harvest evolution. In chemical analyses carried out, all strawberry tree fruits, with exception of the green ones, showed an increase in °Brix, and pulp pH and a decrease in titrable acidity.

During the experiments we also analyzed the amount of ascorbic acid (mg/100 mL) and total phenolics (mg of galic acid/100 mL). We could not find a regular pattern of evolution of these compounds during post-harvest, probably due to the variability of the fruits, since they were collected from trees with different genotypes, growing in different conditions, especially evident in the case of the fruits collected in the natural settlement. As already reported by other authors, our work confirms that strawberry tree fruits have high amounts of ascorbic acid too.

In this study we tried to determinate the climacteric behavior of strawberry tree fruit. Our results suggest that strawberry tree fruits are not a typical climacteric fruit, but are closer to a climacteric behavior than to non-climacteric fruits since we report that these fruits ripen in post-harvest they turn to red, increasing °Brix and decreasing titrable acidity), showed peaks of ethylene and CO_2 , and the production of ethylene was classified from low to moderate (between $0.1 \text{ e } 10 \mu\text{L kg}^{-1}\text{h}^{-1}$).

Índice

1	Introdução.....	1
2	Revisão bibliográfica.....	3
2.1	Características botânicas do medronheiro	3
2.2	Ecofisiologia	4
2.2.1	Ocorrência e distribuição do medronheiro	4
2.2.2	Condições climáticas	6
2.2.3	Condições edáficas	6
2.2.4	O medronheiro e o clima mediterrânico	7
2.2.5	O sistema radicular do medronheiro	8
2.2.6	A parte aérea do medronheiro	10
2.3	Utilizações do medronheiro	13
2.4	O fruto – Medronho.....	14
2.4.1	Teor de humidade	19
2.4.2	Teor de sólidos solúveis	19
2.4.3	Ácidos orgânicos	20
2.4.4	Fibras	21
2.4.5	Lípidos e minerais	21
2.4.6	Compostos anti-oxidantes	21
2.5	O processo de maturação dos frutos	27
3	Material e Métodos	29
3.1	Caracterização morfológica de clones de medronheiro	29
3.1.1	Localização do ensaio	29
3.1.2	Material vegetal	30
3.1.3	Características avaliadas.....	31
3.2	Fisiologia pós-colheita dos frutos.....	33
3.2.1	Caracterização físico-química dos frutos	33
3.3	Determinação do etileno produzido e da taxa respiratória	39
3.3.1	Classificação e segregação dos frutos por estado de maturação	39
3.3.2	Determinação da produção de etileno e taxa respiratória	40
3.4	Análise Estatística	41
4	Resultados e discussão	42
4.1	Características dos clones.....	42
4.1.1	Desenvolvimento vegetativo	42

4.1.2	Caracterização morfológica das folhas	42
4.1.3	Hábitos de frutificação, frutos e rebentos de primavera	45
4.1.4	Caracterização dos frutos	48
4.2	Fisiologia pós-colheita dos frutos.....	49
4.2.1	Caracterização físico-química dos frutos	49
4.2.2	Determinação do etileno produzido e da taxa respiratória dos medronhos 64	
5	Conclusão e Perspetivas	67
6	Bibliografia.....	71

Lista de abreviaturas

A. unedo – *Arbutus unedo* L.

C – Saturação

cm – centímetro

Diâm. – Diâmetro

dm – decímetro

DP - desvio padrão

g – grama

GAE – Equivalente Ácido Gálico

LDL – Low Density Lipoprotein

m – metro

mg – miligrama

min - máx – mínimo-máximo

mL – mililitro

mm – milímetro

mmol – milimole

mol – mole

nm – nanómetro

ORAC – Oxygen Radical Absorbance Capacity

spp. – várias espécies

TBARS – Thiobarbituric Acid Reactive Substances

TE – Trolox Equivalent

TEAC – Trolox Equivalent Antioxidant Capacity

TSS – Teor de Sólidos Solúveis

Un. Durofel – Unidade Durofel

UV - Ultravioleta

var. – variedade

vol. – volume

WUE – Water Use Efficiency

µL – microlitro

µm – micrómetro

µmol – micromole

h - hora

h° - Tonalidade

IW₅₀ – peso seco que causa 50% de inibição da peroxidação lipídica

kg – quilograma

L – litro

L* – Luminosidade

larg. - largura

Lista de Figuras

Figura 1 - Distribuição de <i>A. unedo</i> na região mediterrânea. (Adaptado de: Prada & Arizpe, 2008).	5
Figura 2 - Distribuição de <i>A. unedo</i> em Portugal continental (Adaptado de: ICNF – Instituto de Conservação da Natureza e Florestas, 2013).....	5
Figura 3 - Plantação de medronheiros (Estreito, Oleiros) Coordenadas: 39°57'38"N 7°48'55,24"O 647 m	29
Figura 4 - Clone de medronheiro.	31
Figura 5 - Dimensões utilizadas na caracterização das folhas.	32
Figura 6 - Infrutescência com oito frutos (22-05-2013).....	32
Figura 7 - Ramo (infrutífero) com seis rebentos.	33
Figura 8 - Frutos maduros do clone AL1.....	33
Figura 9 - Frutos em diferentes estados de maturação (vermelhos, vermelhos claros e amarelos) colhidos a 28 de Outubro de 2013, utilizados na experiência I.	34
Figura 10 - Frutos em diferentes estados de maturação (verdes, amarelos e vermelhos claros) colhidos a 5 de Novembro de 2013, utilizados na experiência II.....	34
Figura 11 - Instrumentos utilizados nas análises físicas: balança KERN, uma craveira MITUTOYO, colorímetro MINOLTA CR400, e penetrómetro DUROFEL-DIGITAL FIRMNESS TESTER	36
Figura 12 - Extração da polpa dos medronhos através de pano-cru.	36
Figura 13 - Medição do teor de sólidos solúveis da polpa com refratómetro digital.	37
Figura 14 - Pesagem, agitação, medição do pH e titulação da polpa.....	37
Figura 15 - Titulação da diluição de polpa com DCPIP.	38
Figura 16 - Medição do teor de fenóis totais.	39
Figura 17 - Frutos em diferentes estados de maturação (verdes, amarelos, vermelhos claros, vermelhos) utilizados na determinação do etileno produzido e taxa respiratória.	
39	
Figura 18 - Colheita de amostras da fase gasosa.	40
Figura 19 - Injeção da amostra da fase gasosa em Cromatógrafo Gasoso TRACE Ultra (Thermofisher).	41
Figura 20 - Folhas dos clones.....	44

Figura 21 - Rebentos do clone AL2.....	47
Figura 22 - Rebentos do clone AL1.....	47
Figura 23 - Rebentos do clone C1.	47
Figura 24 -Rebentos do clone AL3.....	47
Figura 25 - Evolução da firmeza nos medronhos da experiência I.	52
Figura 26 - Evolução da tonalidade nos medronhos da experiência I.	52
Figura 27 - Evolução da luminosidade nos medronhos da experiência I.	53
Figura 28 - Evolução da firmeza nos medronhos da experiência II.	60
Figura 29 - Evolução da tonalidade nos medronhos da experiência II.	60
Figura 30 - Evolução da luminosidade nos medronhos da experiência II.	61
Figura 31 - Produção de etileno e CO ₂ pelos medronhos da experiência I (dia 1 = 48 horas após a colheita).....	64
Figura 32 - Produção de etileno e CO ₂ pelos medronhos da experiência II (dia 1 = 12 horas após a colheita).....	65

Lista de Quadros

Quadro 1 - Parâmetros físicos (dimensões e peso) dos frutos de <i>A. unedo</i> , segundo vários autores.	15
Quadro 2 - Parâmetros físicos (cor) dos frutos de <i>A. unedo</i> , segundo vários autores.	16
Quadro 3 - Composição nutricional do fruto de <i>A. unedo</i> , segundo vários autores.	17
Quadro 4 - Comparação do perfil nutricional de mirtilos e medronhos, segundo vários autores.....	26
Quadro 5 - Comparação do perfil antioxidante de mirtilos e medronhos, segundo vários autores.....	26
Quadro 6 - Classificação dos produtos hortofrutícolas com base na taxa de produção de etileno a 20 °C (adaptado de Kader, 2002)	28
Quadro 7 - Resultados da análise ao solo do ensaio	30
Quadro 8 - Altura, volume da copa e área seccional do tronco dos clones.	42
Quadro 9 - Características físicas das folhas no dia 23/05/2013. Médias do comprimento e largura do limbo, relação comprimento/largura (C/L), pecíolo e espessura.	44
Quadro 10 - Percentagem de árvores com frutos	45
Quadro 11 - Número de infrutescências, número médio de frutos por infrutescência e número médio de rebentos por infrutescência.	46
Quadro 12 - Número médio frutos por quadrante.....	47
Quadro 14 - Características físicas dos frutos vermelhos de AL1. Médias e desvios padrão do peso, diâmetro, forma, firmeza, L, tonalidade e saturação.	48
Quadro 13 - Características dos clones de medronheiro AL1 e AL2; frutos produzidos em 2006.....	48
Quadro 15 - Características físicas dos medronhos da experiência I no 1º dia (29/10/2013). Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação.	50
Quadro 16 - Características físicas dos medronhos da experiência I nos dias 29 e 31 de Outubro e 4 de Novembro. Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L, tonalidade e saturação.....	51
Quadro 17 - Características químicas dos medronhos da experiência I no 1º dia (29/10/2013). Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da	

acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).	53
Quadro 18 - Características químicas dos medronhos da experiência I nos dias 29 de Outubro, 1 e 4 de Novembro de 2013. Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).....	56
Quadro 19 - Características físicas dos medronhos da experiência II no 1º dia (06/11/2013). Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação. 57	
Quadro 20 - Características físicas de medronhos da experiência II nos dias 6, 8 e 11 de Novembro. Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação.59	
Quadro 21 - Características químicas dos medronhos da experiência II no 1º dia (06/11/2013). Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).	61
Quadro 22 - Características químicas dos medronhos da experiência II nos dias 6, 8 e 11 de Novembro de 2013. Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).....	63
Quadro 23 - Características físicas e químicas dos medronhos no 1º dia das experiências I e II. Valores mínimos e máximos do peso (g), firmeza (Un. Durofel), teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).	68

Índice de Anexos

Anexo 1 – Curva de calibração do ácido gálico.....	78
Anexo 2 - Aspetto dos medronhos da experiência I (vermelhos, vermelhos claros e amarelos, respectivamente) no dia 29/10/2013.....	78
Anexo 3 - Aspetto dos medronhos da experiência I (vermelhos, vermelhos claros e amarelos, respectivamente) no dia 31/10/2013.....	79
Anexo 4 - Aspetto dos medronhos da experiência I (vermelhos, vermelhos claros e amarelos, respectivamente) no dia 04/11/2013.....	79
Anexo 5 - Aspetto dos medronhos da experiência II (verdes, amarelos e vermelhos claros, respectivamente) no dia 06/11/2013.....	80
Anexo 6 - Aspetto dos medronhos da experiência II (verdes, amarelos e vermelhos claros, respectivamente) no dia 08/11/2013.....	81
Anexo 7 - Aspetto dos medronhos da experiência II (verdes, amarelos e vermelhos claros, respectivamente) no dia 11/11/2013.....	81
Anexo 8 – Evolução do aspeto dos medronhos verdes da experiência II (dias 11, 15, 19 e 21 de Novembro de 2013, respectivamente).....	82
Anexo 9 – Processo de extração da polpa dos medronhos verdes (medronhos cortados, medronhos após trituração com “varinha mágica” Braun, medronhos triturados em pano crú e extração da polpa para gobelé, respectivamente).	82

1 Introdução

O medronho é um fruto consumido e aproveitado em Portugal desde tempos imemoriais, apesar disso, o medronheiro raramente passou de espécie considerada espontânea, sendo o seu aproveitamento tipicamente florestal. No nosso país, o aproveitamento dos medronhos para o fabrico de aguardente foi e continua a ser a principal utilização dada a esta espécie (Tapum, 1980; Correia & Varela, 1996; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001; Gomes, 2011), tendo esta tradição especial importância na região algarvia. Após um período de depressão na produção e consumo da aguardente de medronho, os elevados preços que a aguardente de qualidade pode atingir têm-se tornado um incentivo à produção e expansão da cultura do medronheiro.

Uma vez que as plantações com plantas provenientes de semente não garantem uma produtividade homogénea e suficiente, a Escola Superior Agrária de Coimbra tem apostado na micropropagação de plantas previamente selecionadas como produtoras de frutos de qualidade superior (Gomes & Canhoto, 2009; Gomes *et al.*, 2010). De acordo com Gama (2012) novas plantações, com mais conhecimento técnico, com plantas melhoradas e recurso à rega quando possível vão permitir aumentar o volume, a variedade e a qualidade dos produtos finais, seja a aguardente e outros destilados, o fruto fresco, as compotas, os produtos de pastelaria, o mel, a verdura para arranjos florais, os cogumelos ou a fitoterapia, entre outros.

A produção de fruto para consumo em fresco parece ser uma boa aposta, associada ainda a uma menor taxa de IVA, com potencial de mercado associando a sua imagem ao facto do medronho ser um fruto com elevado valor nutricional, rico em antioxidantes, e com boa uma imagem do ponto de vista ambiental, com menor pegada de carbono, fator a que o mercado europeu é sensível e, sucedendo a produção à colheita de mirtilo, poder-se-á aproveitar o espaço de mercado deixado vazio por este (Lagarto *et al.*, 2012).

Do ponto de vista científico o medronheiro tem sido objeto de projetos nacionais, como PTDC/AGR-CFL/100286/2008 *Arbutus unedo* L. (medronheiro): propagação, conservação e caracterização molecular de árvores selecionadas (2008) e estes recentemente aprovados projeto PRODER 4.1: 43748 “O medronho - conversão da planta silvestre numa espécie fruteira rentável (2013)” e projeto PTDC/AGR-FOR/3746/2012 ARBUTUS - melhoramento das plantas e da qualidade dos produtos de *Arbutus unedo* para o sector agro-florestal (2012), o que demonstra a necessidade de mais conhecimento desta espécie e o potencial de valorização da planta e do fruto.

No âmbito destes projetos têm decorrido trabalhos visando a micropropagação e micorrização de plantas selecionadas, condução dos pomares e utilizações dos frutos,

que ambicionam reduzir os custos de produção das plantas, aumentar a produtividade dos pomares, assim como a qualidade e diversidade dos produtos obtidos, respectivamente.

O presente trabalho teve dois objetivos que ambicionam contribuir para um maior conhecimento do medronheiro e dos seus frutos:

1 - Pretendeu-se caracterizar morfológicamente os diferentes clones selecionados em 2007, que estão instalados num pomar comercial em Oleiros, Castelo Branco, no intuito de detetar eventuais diferenças entre eles e acompanhar o ciclo vegetativo. Este trabalho servirá de complemento ao trabalho de caracterização molecular que está a ser desenvolvido no âmbito destes projetos.

2 - Estudar o comportamento fisiológico do fruto no período pós-colheita de forma a melhor avaliar a evolução da sua maturação.

Apesar de terem sido publicados vários trabalhos sobre a composição química e nutricional do medronho e das suas características físicas, o comportamento fisiológico no período pós-colheita não foi estudado. Não se sabe se trata de um fruto climatérico ou não climatérico. Os trabalhos recentes realizados até ao momento em Portugal (Guerreiro *et al.*, 2013 e Santos *et al.*, 2013) averiguaram a evolução da cor e da textura, apontado a hipótese do medronho ser um fruto climatérico. Nesta tese esta hipótese foi testada com a metodologia adequada a todos os frutos, medição da taxa de respiração e da produção de etileno ao longo da maturação dos frutos.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Características botânicas do medronheiro

O medronheiro (*Arbutus unedo* L.) pertence à família das Ericáceas, sub-família Arbutoideae. A esta família pertencem também o mirtilo, o rododendro, a azália e a urze.

De acordo com Hileman *et al.* (2001) a sub-família *Arbutoideae* é um grupo distinto dentro das Ericáceas, baseado na morfologia da flor e do fruto, anatomia e fitoquímica. É um *taxa* de plantas esclerófilas, adaptadas a climas secos, sendo que a maior diversidade dentro do grupo ocorre nas regiões mediterrânicas do Oeste norte-americano.

O género *Arbutus* é caracterizado pelos frutos carnudos, baciformes, de endocarpo macio, com numerosos óvulos por lóculo e superfície do fruto granulosa. Na região do Mediterrâneo ocorrem naturalmente três espécies do género *Arbutus*: *A. unedo*, *A. andrachne* e *A. x andrachnoides*, este último supõe-se que seja um híbrido entre os dois primeiros.

A. unedo L. é uma espécie diploide ($2n=26$), reproduz-se sexualmente por via seminal, ou vegetativamente através de rebentos de raiz (Sulusoglu *et al.*, 2011).

Ocorre frequentemente como arbusto ou pequena árvore de folha perene, de copa geralmente oval. A espessura da copa pode variar com a época do ano, uma vez que é comum observar-se a queda primaveril/estival das folhas mais velhas (Gratani & Ghia, 2002a). Apesar de nos sítios mais húmidos poder atingir 12 m de altura, usualmente não ultrapassa os 5 m (ICNF, 2013).

Os ramos são geralmente numerosos, de cor avermelhada, de casca áspera, gretada, com manchas pardo-acinzentadas (Tapum, 1980). As folhas são alternas, de pecíolo curto, por vezes encarnado, muito próximas entre si. Têm formas ovais, lanceoladas ou obtusas. São glabras, coriáceas, de cor verde-escuro, brilhante na página superior e mais pálidas na inferior. As margens são dentadas. O comprimento das folhas situa-se entre os 6 e os 9 cm e a largura entre os 2 e 3 cm.

As flores são hermafroditas, em forma de sino, de coloração branca a cor-de-rosa escuro, com 6 a 8 mm de diâmetro, dispostas em cachos pendentes da extremidade dos ramos. São auto-férteis e polinizadas por insetos (Orwa *et al.*, 2009). A floração dá-se, geralmente, de outubro a dezembro (Gratani & Ghia, 2002a) e o amadurecimento dos frutos ocorre no outono/inverno do ano seguinte. Estes levam aproximadamente um ano a desenvolver-se, sendo vulgar encontrarem-se plantas ostentando flores e frutos simultaneamente. Florações em maio e junho são esporádicas e ocorrem relacionadas com o biótipo, independentemente das condições ambientais (Pinna, 2011).

Os frutos desenvolvem-se em ramos do ano anterior, pela transformação de um gomo foliar terminal em floral (Tapum, 1980). O fruto de *A. unedo* L. é uma baga esférica-oblonga, coberta de pequenas saliências cónicas. Sendo primeiramente verde, no início do amadurecimento o fruto adquire a cor amarela, passando a laranja, vermelho e vermelho-escuro no final da maturação. Nessa altura, os medronhos apresentam consistência farinhenta, medindo cerca de 2 cm de diâmetro (Orwa *et al.*, 2009). Os medronhos não amadurecem simultaneamente, coexistindo na mesma árvore frutos de cores verde/amarelado a vermelhos (Oliveira *et al.*, 2011). Apresentam 5 lóbulos e muitas sementes (Tapum, 1980). O miolo do medronho é verde nos frutos imaturos, amarelo nos frutos em amadurecimento e amarelo/alaranjado nos frutos maduros.

2.2 Ecofisiologia

2.2.1 Ocorrência e distribuição do medronheiro

O medronheiro é uma das plantas mais comuns na bacia mediterrânica, sendo vulgar a sua ocorrência em Portugal, Espanha, França, sul de Itália e sul da Grécia, em quase todas as ilhas mediterrânicas, ilhas Canárias, Irlanda e Israel (Figura 1) (Correia & Oliveira 1999), e ocorre de forma exótica nos EUA e na Austrália (Orwa *et al.*, 2009). Em Portugal encontra-se em todo o território (Figura 2), mas principalmente a sul do rio Tejo (Correia & Oliveira 1999).

É uma espécie típica dos matos e matagais mediterrânicos, podendo ser encontrada até 1200 m de altitude. O medronheiro desenvolve-se em bosques de *Quercus* spp. e de *Pinus* spp. ou em matos altos em mistura com outras espécies típicas do maquis mediterrânico (Prada & Arizpe 2008).

Segundo Neto (2007) admite-se que a morfologia lauróide das folhas de *A. unedo* seja herança de antepassados que teriam colonizado a Europa durante o período Terciário, num ambiente subtropical. O medronheiro seria das poucas plantas que conseguiu suportar os períodos frios do Quaternário e se adaptou ao clima mediterrânico. A distribuição de *A. unedo* é típica da vegetação esclerófila mediterrânea e vegetação lauróide, ocorrendo principalmente em áreas costeiras ou insulares de climas amenos, onde nem o frio invernal, nem a seca estival sejam muito intensos.

Segundo Molina *et al.* (2011), apesar do medronheiro ocorrer por toda a Espanha, é muito mais frequente em regiões de clima não continental. O calor e a humidade do ar são os principais condicionantes da distribuição de *A. unedo* (Gratani & Ghia 2002b).



Figura 1 - Distribuição de *A. unedo* na região mediterrânica.
(Adaptado de: Prada & Arizpe, 2008).

Relativamente a Portugal e citando Neto (2007), os medronheiros são particularmente abundantes nas colinas graníticas ou calcárias mediterrânicas, próximas do mar, como sucede na Arrábida, Grândola, Cercal, Monchique, Espinhaço de Cão, Caldeirão, Maciço Calcário Estremenho, etc. No Noroeste e no Nordeste montanhoso e ainda no Maciço Central, os medronhais praticamente não ocorrem, pois as baixas temperaturas inverniais ultrapassam o valor mínimo de resistência da planta. No Noroeste apenas podemos vê-los em locais de solos profundos e sem geadas, nos vales do Homem, Cávado e Lima, nunca subindo muito em altitude. No Nordeste transmontano, os medronhais são frequentes nos territórios de média altitude, sobretudo associados ao vale do Douro. Ocorrem também na Serra da Estrela, nas áreas de menor altitude. O medronheiro é de ocorrência rara ou inexistente nos locais mais quentes do mediterrâneo, preferindo situações mais amenas.



Figura 2 - Distribuição de *A. unedo* em Portugal continental
(Adaptado de: ICNF – Instituto de Conservação da Natureza e Florestas, 2013)

2.2.2 Condições climáticas

O medronheiro está adaptado a climas temperados e invernos de temperaturas suaves (Tapum, 1980), segundo Rau (2008), a espécie suporta temperaturas mínimas de -12 °C e máximas de 35 a 40° C, as temperaturas ótimas estão compreendidas entre os 15 e os 20° C. Vegeta bem onde a temperatura média anual for superior a 12,5 °C, a precipitação média anual for entre 500 e 1400 mm e a geada inferior a 40 dias/ano (Correia & Varela, 1996).

Segundo Lagarto *et al.* (2013), é uma espécie caracterizada por extrema rusticidade, tolerando condições de stress hídrico e solos degradados, mas não vegeta em boas condições aquando de geadas intensas e verões secos e longos. É uma planta que necessita de proteção nos primeiros estágios de desenvolvimento, mas depois torna-se bastante tolerante a condições adversas tais como poluição do ar, ventos fortes, ar frio e salinidade (Sulusoglu *et al.*, 2011).

De acordo com Tapum (1980), o medronheiro é muito sensível às geadas, que queimam as folhas e os gomos novos e destroem as flores. As plantas jovens são bastante mais sensíveis que as adultas, pois nestas a maior parte dos ramos novos estão protegidos pelas folhas e ramos velhos. Plantas isoladas, ou plantadas em compasso são mais suscetíveis aos danos do que as que se encontram em povoamentos naturais. Os medronheiros em encostas expostas a sul são menos atingidos pelas geadas do que aqueles situados em vales onde se acumula ar frio ou encostas voltadas a norte.

As chuvas intensas durante a época da floração (outubro a dezembro) podem destruir as flores, assim como as chuvadas de verão podem provocar a queda dos frutos.

O granizo pode provocar elevada queda de frutos e feridas na sua superfície. Por estas feridas penetram fungos e bactérias que provocam o apodrecimento dos frutos atingidos, inviabilizando o seu consumo. O nevoeiro na altura da floração pode provocar o apodrecimento das flores, fazendo-as cair. O vento forte pode interferir na polinização e derrubar os frutos quando estes se encontram no final da maturação. Os ventos quentes e secos contribuem para a desidratação das plantas, o que pode fazer com que os frutos sequem.

2.2.3 Condições edáficas

O medronheiro prospera numa larga gama de solos, com origem em xistos, granitos e calcários, distribuindo-se de norte a sul do país. O medronheiro revela alguma plasticidade quanto aos solos onde vegeta, no entanto parece preferir solos arenosos, siliciosos e ácidos, no entanto, também ocorrem em solos derivados de calcários (Correia & Varela 1996). De acordo com Rau (2008) *A. unedo* tem preferência por solos soltos, profundos, siliciosos, ricos em matéria orgânica, mas adapta-se a solos secos, calcários e

pobres em húmus, de textura média. O mesmo autor indica uma gama de pH compreendida entre 5,5 e 7. Lagarto *et al.* (2013) indicam a preferência da espécie por solos siliciosos ou descarbonatados, possuindo uma boa tolerância ao teor de acidez, crescendo em solos ácidos a alcalinos de pH entre 5,0 e 7,2. Os medronheiros estudados por Celikel *et al.* (2008) encontravam-se em solos com valores de pH entre 5,6 e 8,2 e teores de matéria orgânica compreendidos entre 0,63 e 14,24%.

O ICNF (2013) indica como situações indicadas para a cultura do medronheiro os solos normais, abastecidos apenas pela água da chuva (retendo uma parte e drenando a restante), sem excesso de iões fitotóxicos e com profundidade suficiente, que em termos fisiográficos correspondem a situações planas ou a meias-encostas, sem declive acentuado, situados de 0 a 700 m de altitude. O medronheiro é ainda recomendado para os sítios de solos com calcário ativo elevado.

O medronheiro desenvolve-se em solos contaminados com arsénio, cobre, cádmio, chumbo, zinco e tungsténio, e, uma vez que os teores em raminhos, folhas, raízes e frutos, são iguais ou inferiores a amostras colhidas em locais não contaminados, assume-se que a planta tolera estes elementos, sem os bio-acumular. Exceção feita ao Cádmio, do qual ocorre alguma acumulação na parte aérea da planta sem, no entanto, atingir o limite tóxico para o gado, daí que não seja uma ameaça para os sistemas tróficos e ecológicos (Godinho, 2009).

2.2.4 O medronheiro e o clima mediterrânico

O clima mediterrânico é caracterizado por invernos frios e húmidos e verões quentes e secos. Nestas regiões, a secura estival é considerada o fator com maior influência no crescimento e distribuição das plantas. Durante o verão mediterrânico, os medronheiros em condições naturais estão sujeitos a longos períodos de défice hídrico, caracterizados por altas temperaturas do ar, elevada radiação e um elevado défice de pressão de vapor (Bombelli & Gratani, 2003).

Segundo Alves *et al.* (2012) os défices de água afetam a produtividade das árvores através da redução a área fotossinteticamente ativa, como resultado da perda de área folear por inibição da produção de novas folhas, diminuição da expansão celular, e senescência precoce das folhas; por mobilização e eventual esgotamento das reservas nutritivas; por decréscimo na taxa de assimilação fotossintética devido ao encerramento dos estomas e possível foto-inibição devido ao decréscimo na eficiência de conversão da radiação. Os défices hídricos prolongados levarão, numa sequência de acontecimentos, à perda de raízes finas, senescência e perda das folhas e dos ramos por cavitação e embolismo do xilema (formação de bolhas de ar no interior dos vasos xilémicos).

Apesar das suas taxas de crescimento serem baixas quando comparadas com as das florestas dos climas temperados, as plantas típicas do clima mediterrânico, principalmente as plantas esclerófilas, desenvolveram adaptações morfológicas e fisiológicas que lhes permitem ser bem-sucedidas neste tipo de ambiente (Ogaya *et al.*, 2002). Sistema radicular profundo, produção de óleos voláteis (Caldeira, 2012) reduzida superfície foliar, elevada espessura cuticular, células esclerenquimatosas, tricomas e variações do ângulo de inclinação das folhas, podem ser enumeradas como adaptações morfológicas que permitem aumentar a resistência à seca (Bombelli & Gratani, 2003).

Nos capítulos seguintes, discorrer-se-á acerca de características dos sistemas radicular e aéreo de *A. unedo* que lhe permitem subsistir e produzir frutos sob as condicionantes típicas do clima mediterrânico.

2.2.5 O sistema radicular do medronheiro

De acordo com Tapum (1980) e Castell *et al.* (1994), o sistema radicular do medronheiro é bastante superficial estendendo-se muito, mas aprofundando pouco. No entanto, Orwa *et al.* (2009) referem que *A. unedo* possui uma comprida raiz pivotante, que o torna tolerante à secura, esta característica fará com que os medronheiros uma vez estabelecidos não devam ser transplantados. Segundo Filella & Peñuelas (2003), *A. unedo* L. apresenta raízes superficiais e profundas, podendo as últimas explorar camadas do solo entre 2 e 5 m de profundidade. Sistemas radiculares duais, como o do medronheiro, são capazes de explorar diferentes camadas de solo durante o ano e durante o dia. As raízes mais superficiais podem permanecer ativas durante o verão, absorvendo ativamente nutrientes concentrados perto da superfície do solo, como o azoto. Um dos benefícios de um sistema radicular dual é que as raízes mais profundas abastecem de humidade as raízes mais superficiais permitindo-lhes ficar ativas para aproveitar a água das chuvas de verão e os nutrientes libertados pelo solo quando este é humedecido após longos períodos de secura. Silva & Rego (2004) encontraram valores de 30 ± 15 cm de profundidade máxima das raízes em medronheiros com $52,5 \pm 17,5$ cm de altura e $5,2 \pm 3,8$ cm de diâmetro da base do tronco.

As espécies do género *Arbutus*, como o medronheiro, associam-se com fungos basidiomicotas, que comumente formam ectomicorrizas com outros hospedeiros, estabelecendo micorrizas do tipo arbutoide (Gomes *et al.*, 2012), neste tipo de associações micorrízicas a planta hospedeira fornece ao fungo fotoassimilados provenientes da atividade fotossintética. Os fungos micorrízicos constituem uma componente relevante nos sistemas agrícolas e florestais porque interferem em diferentes processos, tais como: na promoção do crescimento (através do aumento do volume de solo explorado pelo micélio e consequentemente pela assimilação de

nutrientes e água); no aumento de tolerância a condições de stresse abiótico (stress hídrico, solos degradados, metais pesados); no aumento de tolerância a condições de stresse biótico, através do efeito antagonista e competitivo com agentes patogénicos (pragas e doenças); no acréscimo de azoto disponível para as plantas, através da assimilação de azoto na forma orgânica (caso dos fungos ectomicorrízicos); na promoção da agregação dos solos, através da produção da glomalina, contribuindo para a estabilidade dos agregados argilo-húmicos e consequentemente para a recuperação de solos degradados; na indução e formação de raízes ramificadas, através da libertação de auxinas ou outros reguladores de crescimento, contribuindo para o aumento do grau de colonização; e na promoção e antecipação da idade de floração e frutificação (Gomes *et al.*, 2012).

No trabalho de Castaldi *et al.* (2009) encontraram-se evidências no sentido de que a decomposição da folhada de *A. unedo* L. tem um efeito inibidor da nitrificação, sugerindo que este possa ser um mecanismo para facilitar a absorção de N pelas plantas através das micorrizas, “encurtando” o ciclo do azoto. Esta ação alelopática terá ainda um efeito redutor das emissões de N₂O, um gás com efeito de estufa.

Segundo Gomes (2011), as micorrizas podem contribuir para a redução da aplicação de fertilizantes e biocidas, prática que poderá reduzir o custo da planta e a poluição ambiental, assim como aumentar resistência do hospedeiro a doenças do solo. No trabalho de Gomes (2011), as plântulas de *A. unedo* L. micropropagadas e inoculadas em viveiro com fungos micorrízicos tiveram taxas de crescimento mais elevadas que as suas homónimas de controlo e que plântulas provenientes de propagação seminal. Como as plantas micorrizadas não apresentaram crescimentos inferiores às adubadas, a autora considera a micorrização uma melhor opção, por ser ambientalmente limpa e indutora de melhorias nas condições fisiológicas das plantas.

A utilização da micorrização com fungos comestíveis, para além dos efeitos benéficos já descritos, poderá também funcionar como mais um recurso económico, contribuindo para a fixação da população nas zonas rurais. No entanto, de modo a viabilizar esta opção, serão necessários mais estudos para assegurar a persistência do fungo inoculado, bem como a seleção de estirpes pela sua agressividade em viveiro (Gomes, 2011).

A elevada razão raiz/parte aérea (3,7), encontrada por Silva & Rego (2004) para *A. unedo* L., indica que a massa do sistema radicular é bastante elevada comparativamente à parte aérea. Segundo os mesmos autores, tal ocorre devido à formação de uma toíça imediatamente abaixo da superfície do solo, na qual a planta acumula hidratos de carbono na forma de amido e outros nutrientes. Kummerow (1989) afirma que as toíças, ao atuarem como reservatórios de água, hidratos de carbono e

minerais tornam os medronheiros mais tolerantes aos efeitos de rápidas alterações ambientais.

Estas reservas são ainda mobilizadas ao longo da vida da planta para emitir rebentos de toija. Devido a esta característica *A. unedo* L. é considerada uma espécie de regeneração vegetativa, pois em caso de forte perturbação (ex. fogo, herbívoros, corte), é frequente a reposição da parte aérea ser efetuada a partir dos rebentos de toija então emitidos (Silva & Rego 2004).

De acordo com Canadell & Lopez-Soria (1998), a toija forma-se nas primeiras fases do desenvolvimento da planta mesmo na ausência de perturbações, no entanto, plantas sujeitas a vários ciclos de perturbações e regenerações da parte aérea desenvolvem as maiores toijas. No trabalho destes autores a área projetada das toijas de *A. unedo* variou entre 41 e 3068 cm².

Segundo Mesléard & Lepart (1989), a emissão de rebentos de toija em *A. unedo* processa-se mais ou menos continuamente, ocorrendo um aumento do número de rebentos durante os primeiros 25 anos de vida da planta, não estando obrigatoriamente dependente da ocorrência de perturbações. Posteriormente, a mortalidade dos rebentos ultrapassa a taxa de emissão e o número de ramos decresce progressivamente. Assim sendo, a toija terá maior importância durante as primeiras fases do desenvolvimento da planta, uma vez que permite a emissão dos rebentos que serão, mais tarde, dominantes. Na ausência de perturbação, é vulgar deixar de ocorrer a emissão de rebentos.

Poderá concluir-se que a emissão de rebentos de toija faz parte da estratégia de ocupação do espaço de *A. unedo*, em que os ramos dominantes apresentam desenvolvimento visivelmente acrótono, típico de espécies arbóreas, e a emissão contínua de rebentos de toija é uma característica de espécies basítonas, de tipo arbustivo.

2.2.6 A parte aérea do medronheiro

Apesar dos poucos estudos efetuados na área, *Arbutus unedo* L. parece ser uma espécie de extrema plasticidade ecológica, apresentando uma variabilidade notável de caracteres morfológicos de acordo com o ambiente em que se desenvolve (Pinna, 2011) Num estudo efetuado na Grécia, o exame de características foliares e do fruto permitiu a identificação de dois ecótipos distintos, constatando-se que nos terrenos de reduzida fertilidade, lugares rochosos situados a 200 – 700 m de altitude, se observavam folhas de coloração verde-acinzentada e frutos pequenos de cor vermelho intenso, ao passo que dos 0 aos 300 m de altitude os medronheiros apresentavam folhas mais verdes e frutos de maiores dimensões (Pinna, 2011).

Os medronheiros nas condições mediterrâneas apresentam frequentemente um porte arbustivo (inferior a 5 m), sendo que as formas arbóreas só costumam ocorrer naturalmente em situações favoráveis em que os recursos hídricos não são limitantes (Pinna, 2011; Sulusoglu *et al.*, 2011).

De acordo com Alves *et al.* (2012), a forma arbustiva apresenta vantagens em condições de aridez ou de frio intenso. Nas situações de aridez, se o stress hídrico for suficientemente severo pode causar embolismos nos vasos xilémicos, inutilizando-os. Esta situação pode causar a morte, principalmente a plantas de um só caule, uma vez que a presença de caules múltiplos permite ter outras opções, aumentando as hipóteses de sobrevivência do indivíduo. Em *Arbutus unedo* L. os vasos xilémicos produzidos em condições de deficiência hídrica são geralmente mais estreitos. Estes, apesar de menos eficientes no transporte de água, são mais seguros, uma vez que reduzem o risco de embolismo (Battipaglia *et al.*, 2010).

O medronheiro é uma espécie perenifólia esclerófila. O hábito perenifólio é considerado como uma adaptação a ambientes pobres em nutrientes e/ou com pouca disponibilidade hídrica, devido à baixa razão recursos/perdas. As folhas do medronheiro são típicas da vegetação esclerófila, caracterizada por folhas pequenas, espessas e coriáceas. A dureza das folhas deve-se à presença de células com paredes lenhificadas que as impede de murchar em condições de secura (Alves *et al.*, 2012). A esclerofília é uma característica comum na região mediterrânica servindo como proteção contra o stress hídrico.

Na região mediterrânica, *A. unedo* L. é caracterizado por uma intensa atividade vegetativa no período primaveril. É nesta altura que ocorrem as taxas máximas de fotossíntese e condutância estomática, o pico da queda de folhas (Gratani & Ghia, 2002a), e a formação dos gomos florais (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011).

Segundo Gratani & Ghia (2002b) o abrolhamento está intimamente relacionado com o aumento da temperatura na primavera. No trabalho destes autores, o abrolhamento ocorreu no princípio de Maio. As folhas novas começaram a expandir-se e os lançamentos a alongar quando as temperaturas médias diárias rondavam $22,0 \pm 0,3$ °C. De acordo com os mesmos autores, parece que as temperaturas que permitem a expansão foliar em *A. unedo* se situam no intervalo 22 – 29 °C. A expansão foliar completa atingiu-se passado 53 ± 5 dias após o abrolhamento.

Durante o verão, a atividade fotossintética e a condutância estomática são limitadas pelo efeito da temperatura e do fecho estomático e a atividade vegetativa outonal dura cerca de um mês (Gratani & Ghia 2002a). A adaptação de *A. unedo* ao clima mediterrânico passa pela combinação de características fenológicas, estruturais e funcionais das folhas. Segundo estes autores, a esperança média de vida das folhas de

A. unedo é $11 \pm 0,5$ meses, uma das menores longevidades registradas em plantas perenifólias esclerófilas. Características anatômicas, como as duas camadas de parênquima em paliçada e a razão paliçada/ parênquima esponjoso, estão dentro dos valores típicos das folhas de sol.

Ao contrário de outras espécies esclerófilas mediterrâneas, as folhas de *A. unedo* apresentam uma apreciável variação diurna do ângulo de inclinação das folhas, com um máximo ao meio-dia, que permite reduzir em 48% a radiação incidente.

Do ponto de vista fisiológico, a atividade fotossintética é contínua ao longo do ano, sendo que as taxas de fotossíntese, condutância estomática e teores de clorofilas A e B se encontram no intervalo das espécies esclerófilas mediterrâneas estudadas. Durante o ano, as taxas de fotossíntese líquida máxima ocorreram na primavera e no outono e a mais baixa durante o verão, quando a temperatura média da folha ultrapassava os 34° C (Gratani & Ghia 2002a).

A regressão polinomial entre as temperaturas e a taxa fotossintética indicou que as temperaturas mais favoráveis à fotossíntese ocorreram entre os 19 e os 30° C. Por sua vez, a temperaturas abaixo de 13° C e acima de 36° C, a fotossíntese ocorreu a uma taxa inferior a 50% da máxima.

De acordo com o estudo citado, as taxas de condutância estomática foram mais elevadas no intervalo de temperatura 22-28° C, registrando-se uma redução superior a 50% quando as temperaturas eram inferiores a 14,5° C ou superiores 36° C. A transpiração foi mais elevada durante o verão, apesar do decréscimo de 50% na condutância estomática. Este efeito, combinado com redução da taxa de carboxilação resultou numa redução de 55,4% da eficiência do uso da água (WUE). Segundo os autores, a estratégia adaptativa de *A. unedo* para prosperar no clima mediterrânico parece dever-se à elevada área das folhas, que permite aumentar a capacidade de interseção luminosa, ao passo que a elevada espessura da folha aumenta a capacidade para as trocas gasosas. A variação da inclinação das folhas ao longo do dia parece atuar como um mecanismo de prevenção da fotoinibição das folhas em stress hídrico, reduzir a transpiração e a temperatura das folhas (Gratani & Ghia, 2002b).

O fecho estomático do meio-dia é uma estratégia de redução da transpiração, usada por muitas espécies adaptadas a climas áridos como uma importante forma de conservar os recursos hídricos durante a estação seca (Tenhunen *et al.*, 1981). Das esclerófilas estudadas, *A. unedo* encontra-se entre as que respondem com maior sensibilidade às condições estivais através do fecho estomático (Tenhunen *et al.*, 1982).

Nos cloroplastos das espécies mediterrânicas como *A. unedo*, antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos (carotenoides, α -tocoferol e ácido ascórbico) têm por objetivo manter a integridade das membranas fotossintéticas em situação de stress

oxidativo (Akay *et al.*, 2011). O fator que espoleta o fenómeno do fecho estomático do meio-dia parece ser a diferença de pressão de vapor de água entre a folha e o ar, ocorrendo mesmo em folhas com um abastecimento ótimo de água. Raschke & Resemann (1986) afirmam que a assimilação de CO₂ e a condutância estomática por parte das folhas de *A. unedo* são independentes da temperatura num amplo intervalo que se estende de 20 a 37° C. Por isso, as temperaturas ótimas encontradas para espécies como o medronheiro poderão ser apenas aparentes, uma vez que as respostas da atividade fotossintética e condutância estomática ocorrem em resposta às variações do diferencial entre a pressão de vapor de água da folha e do ar.

De acordo com Gratani & Ghia (2002a), apesar de ter um baixo grau de esclerofilia foliar, *A. unedo* L. está funcionalmente adaptado para enfrentar a secura do verão mediterrânico: um apertado controlo estomático das trocas gasosas e uma ampla tolerância térmica permitem-lhe uma suficiente produção fotossintética, assim como uma cuidadosa relação com as disponibilidades hídricas do solo.

2.3 Utilizações do medronheiro

Das espécies mais importantes do matagal mediterrânico, o medronheiro é seguramente aquela que mais se distingue pela multiplicidade de usos tradicionais visando as diversas partes da planta (Pinna, 2011). Por exemplo, entre outras utilizações, Correia & Varela (1996) indicam também o emprego dos ramos jovens na arte da cestaria, a extração de gomas da semente e a utilização dos ramos por floristas. A beleza das folhas escuras e a invulgar ocorrência simultânea da floração e maturação dos frutos torna o medronheiro bastante apreciado como planta ornamental (Noronha, 2001).

A lenha de medronheiro é particularmente apreciada no campo artesanal. “Sites da especialidade” afirmam que a mesma é adequada para a produção de cachimbos de elevada qualidade. É também considerada um ótimo combustível, conferindo aos assados de carne um sabor peculiar (Pinna, 2011). Noronha (2001) afirma que também é adequada para a produção de carvão vegetal.

A floração do medronheiro pode ser aproveitada para o fabrico de um mel amargo, muito apreciado na região da Sardenha. Além de ser utilizado na confeção de doces típicos daquela região, este produto é conhecido como um excelente vermífugo infantil e pelas propriedades curativas das doenças da boca (Pinna, 2011). Este mel é conhecido pelo seu sabor amargo e ácido, cor escura e alto teor antioxidante.

A importância comercial do medronheiro na fitoterapia, baseia-se na reputação de propriedades adstringentes, antissépticas renais, diuréticas e anti-inflamatórias atribuídas a extratos de diferentes partes da planta como raízes, casca, folhas. As folhas e casca do medronheiro são utilizadas na curtimenta de couros (Noronha, 2001).

Em termos industriais, a indústria química-florestal obtém substâncias colantes e de impermeabilização, extraídas das folhas, do tronco e da casca. Da casca extrai-se também um corante cinzento usado na indústria de tinturaria (Noronha, 2001).

O medronheiro presta-se muito bem à reflorestação e consolidação de dunas costeiras e tem sido utilizado em estudos, participando como bioindicador das etapas evolutivas dos solos (Noronha, 2001).

As folhas do medronheiro podem ser consumidas pelos animais em pastoreio e animais selvagens, e os frutos são apreciados por espécies cinegéticas como os tordos, o que fez com que chegasse a ser plantado com a finalidade de os atrair (Pinna, 2011).

Futuramente, o avanço dos processos de micorrização poderá permitir a produção comercial de cogumelos comestíveis nos pomares de medronheiros (Gomes, 2011). O medronheiro também pode ser usado como forma de recuperação de solos contaminados como ocorre na envolvente das minas da Panasqueira (Godinho, 2009).

2.4 O fruto – Medronho

Os medronhos são frutos edíveis, saborosos apenas quando completamente maduros (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). Nesta fase o seu elevado teor de taninos diminui, o teor de açúcares aumenta (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001) e a polpa é tenra, doce, de ligeiro retrogosto ácido (Noronha, 2001). Diversos autores consideram o consumo dos frutos maduros de *A. unedo* benéfico para a saúde (Ayaz *et al.*, 2000; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001; Pallauf *et al.*, 2008; Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011), sendo tradicionalmente aconselhado no tratamento de desordens gastrointestinais, problemas urológicos, renais, dermatológicos, assim como aplicações cardiovasculares (Oliveira *et al.*, 2011). No entanto, apesar de conter quantidades de nutrientes e compostos bioativos mais elevados que muitas espécies cultivadas, o consumo de medronhos em fresco é limitado (Orak *et al.*, 2011).

Segundo Noronha (2001) estes frutos possuem o inconveniente de serem um pouco indigestos (devido ao seu teor de celulose), podendo provocar uma “indefinida sensação de mal-estar”. Além disso, de acordo com Molina *et al.* (2011), pese embora não se tenham encontrado referências científicas relativas ao seu conteúdo em etanol, o consumo de medronhos em avançado estado de maturação é popularmente tido como causador de sintomas de embriaguez.

Molina *et al.* (2011) afirmam que, para além de se esmagarem com facilidade exigindo um delicado transporte, o seu curto período ótimo de consumo pode ter limitado a sua comercialização. Apesar disto, podem ser facilmente conservados através da refrigeração ou outras técnicas de processamento, aumentando a disponibilidade do fruto pós-colheita.

Devido ao elevado teor de açúcares fermentáveis, os medronhos são normalmente empregues na produção de bebidas alcoólicas (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). Em Portugal, a sua utilização mais corrente é a produção de “Aguardente de medronho” ou “Medronheira”, um destilado alcoólico muito aromático e apreciado (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2000). Pinna (2011) refere que na região da Sardenha obtém-se dos medronhos uma bebida espirituosa de baixo teor alcoólico, que também pode originar um bom vinagre. Os frutos do medronheiro foram também utilizados na produção de álcool a nível industrial, por volta de 1914 (Pinna, 2011).

O teor de pectinas dos medronhos torna-os apropriados para o fabrico de compotas, geleias e marmeladas (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001; Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). O teor de pectinas diminui com o avançar da maturação (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001). Os frutos de *A. unedo* podem ser incorporados em iogurtes em peça ou aromas, em recheios de bolos e massas, em produtos com cereais (barras energéticas ou cereais de pequeno-almoço) e usados como corante alimentar tendo em consideração o seu conteúdo em β -caroteno e antocianinas (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001).

Orak *et al.* (2011) afirmam que o medronho pode ser seco a vácuo e utilizado na indústria alimentar devido à cor atrativa do fruto, atividade antioxidante, e ao facto de ser rico em nutrientes.

A adição de extratos de medronho tem capacidade de prevenir a oxidação proteica em produtos de carne processada (Ganhão *et al.*, 2010).

Da análise do Quadro 1 pode constatar-se que o medronho é um fruto de pequenas dimensões, apresentando, no entanto, variações apreciáveis em termos de diâmetro e peso. As maiores variações foram descritas no trabalho desenvolvido por Şeker *et al.* (2004) com frutos oriundos da Turquia.

Quadro 1 - Parâmetros físicos (dimensões e peso) dos frutos de *A. unedo*, segundo vários autores.

Autor	Noronha (2001)	Celikel <i>et al.</i> (2008)	Sulusoglu <i>et al.</i> (2011)	Serçe <i>et al.</i> (2010)	Şeker <i>et al.</i> (2004)
Estado de maturação	maduro				
Diâm. longitudinal (cm)	1,7 - 2,6	1,9 - 2,3	-	2,54 ± 0,05	0,95 - 2,93
Diâm. equatorial (cm)	1,8 - 2,5	2 - 2,7	-	2,54 ± 0,1	1,12 - 2,75
Peso (g)	5,5 - 8,3	3,2 - 11	1,13 - 6,43	8,81 ± 0,64	0,96 - 13,63

No Quadro 2 são apresentados os parâmetros da cor encontrados por vários autores, em diferentes estados de maturação. Nestes trabalhos, os valores da luminosidade (L^*) e da tonalidade (h) da cor decrescem com o avançar da maturação. A

saturação da cor (C), por sua vez, parece ser maior em medronhos maduros do que nos imaturos.

Quadro 2 - Parâmetros físicos (cor) dos frutos de *A. unedo*, segundo vários autores.

Autor	Sulusoglu <i>et al.</i> , (2011)	Serçe <i>et al.</i> , (2010)	Alarcão-E-Silva <i>et al.</i> , (2001)		İsbilir <i>et al.</i> , (2004)		
Estado de maturação	maduro	maduro	imaturo	maduro	verde	amarelo	vermelho
Luminosidade (L*)	25,13 - 42,97	43,56 ± 1,77	81,75	59,82	44,55 ± 0,2	79,15 ± 0,06	41,18 ± 0,06
a*	23,00 - 47,25	35,36 ± 3,96	-4,4	18,75	-7,18 ± 0,13	-3,50 ± 0,31	31,99 ± 0,25
b*	22,50 - 41,40	47,35 ± 5,12	36,49	38,11	34,95 ± 0,09	45,13 ± 0,12	30,13 ± 0,22
Saturação (C)	33,72 - 59,06	50,01	36,49	42,47	10,15	4,95	45,24
Tonalidade (h)	28,45 - 47,24	53,25	96,87	63,8	101,61	94,43	43,28

No Quadro 3 pretende-se fazer uma compilação de vários trabalhos que descrevem a composição nutricional dos medronhos maduros, comparando-os entre si.

Uma vez que no presente trabalho os valores obtidos são expressos em relação ao peso fresco dos frutos, na tabela apenas constam trabalhos em que os valores são expressos da mesma forma, ou ainda, trabalhos cujos resultados são expressos em relação à matéria seca, mas que por apresentarem o teor de humidade dos frutos permitem fazer a conversão de forma a tornar os valores comparáveis. Estes casos estão marcados com um asterisco (*) junto ao nome dos autores.

Quadro 3 - Composição nutricional do fruto de *A. unedo*, segundo vários autores.

		Ruiz-Rodríguez <i>et al.</i> , 2011		Özcan & Haciseferoğullari* 2007	Orak <i>et al.</i> , 2011	Sulusoglu <i>et al.</i> , 2011	Celikel <i>et al.</i> , 2008	Şerçe <i>et al.</i> , 2010	Barros <i>et al.</i> , * 2010	Pimpão <i>et al.</i> , 2013	Cavaco 2007		Noronha 2001
		Origem	Espanha	Turquia	Turquia	Turquia	Turquia	Turquia	Trás-os-Montes	Alentejo	Algarve		Arganil
		Unidades	média	min - máx	méd ± DP	méd ± DP	min - máx	min - máx	méd ± DP	méd ± DP	méd ± DP	min - máx	média
	Teor de humidade	g/100 g	56,48	46,82 - 71,89	53,72 ± 2,1	56,16 ± 1,07				59,7 ± 2,67	68,84 ± 10,32	58,92 - 73,96	74,6
	Energia	kcal/100 g	101	61,48 - 135,93	151,34 ± 6,02				161,2 ± 0,47				76,1
	Proteínas	g/100g	0,899	0,581 - 1,187	1,56 ± 0,56				1,25 ± 0,03		0,98 ± 0,032		1,2
	Lípidos	g/100g	0,609	0,299 - 0,779									
	Hidratos de carbono	g/100g	23,55	14,11 - 31,55					37,81 ± 0,17				
	TSS	(*Brix)					16,5 - 31,68	15 - 30	11,9 ± 0,1	27,8 ± 0,1	22,71 ± 3,179	18,25 -	
	Gordura	g/100g							0,55 ± 0,16				0,5
Açúcares	Frutose	g/100g	10,36	3,64 - 14,54				9,75 ± 1,29	9,76 ± 0,59		3,07 ± 1,152	1,83 - 4,33	10,7
	Glucose	g/100g	5,51	2,34 - 6,49				5,33 ± 0,88	4,89 ± 0,10		1,11 ± 0,399	0,68 - 1,53	5,1
	Sacarose	g/100g	0,412	traces - 0,483				1,29 ± 0,57	1,69 ± 0,02		0,12 ± 0,046	0,05 - 0,15	n.d.
Fibras	Fibra total	g/100g	16,21	10,04 - 22,27									
	Fibra solúvel	g/100g	2,95	2,17 - 3,71									
	Fibra insolúvel	g/100g	13,26	7,86 - 18,55									
	Celulose	g/100g			2,96 ± 0,51								3,2
	Cinza	g/100g	0,864	0,685 - 1,058	1,31 ± 0,06				0,69 ± 0,04				0,8
	pH		3,38	3,2 - 3,5	4,6 ± 0,1		3,52 - 3,7		5,57 ± 0,07		3,72	3,19 - 4,73	3,9
Sais minerais	Ca	mg/100 g	66,54	40,54 - 104,12	229,5 ± 6,94	64,55 ± 9,1			187 ± 13		48,55		
	Cu	mg/100 g	0,125	0,073 - 0,208	0,08 ± 0,02	1,2			0,17 ± 0,04				
	Fe	mg/100 g	0,885	0,354 - 1,856	0,56 ± 0,05	0,68			4,65 ± 0,8				
	K	mg/100 g	177,3	79,72 - 323,14	689,99 ± 78,07	293,15 ± 46,7			881 ± 63		36,16		
	P	mg/100 g			169,78 ± 15,72	49,3 ± 7,0			179 ± 37				
	Mg	mg/100 g	19,62	9,56 - 45,85	60,88 ± 5,98				124 ± 7		9,62		
	Mn	mg/100 g	0,081	0,038 - 0,178	0,21 ± 0,03			0,42					
	S	mg/100 g				17,14							
	Al	mg/100 g			0,93 ± 0,12								
	As	mg/100 g			0,49 ± 0,3								
	B	mg/100 g			0,74 ± 0,1	1,8							
	Cd	mg/100 g			0,009 ± 0,002								
	Cr	mg/100 g			0,11 ± 0,04								
	Ga	mg/100 g			0,02 ± 0,02								
	Li	mg/100 g			0,04 ± 0,007								
	Na	mg/100 g	7,52	4,33 - 9,94	32,45 ± 3,7						29,74		
	Ni	mg/100 g			0,006 ± 0,006								
	Pb	mg/100 g			0,02 ± 0,002								
	Sr	mg/100 g			0,24 ± 0,04								
	Ti	mg/100 g			0,007 ± 0,01								
	V	mg/100 g			0,77 ± 0,2								
	Zn	mg/100 g	0,471	0,188 - 0,762	0,39 ± 0,04	1,8		0,88 ± 0,1					
Ác. Orgânicos	Acidez titulável	% eq. Ác.málico					0,48 - 1,24	0,66 - 1,59	0,67 ± 0,17				
	Ácido málico	mg/100 g	254,9	203,3 - 299,6				180					
	Ácido oxálico	mg/100 g	96,51	48,44 - 146,75							n.d.		
	Ácido cítrico	mg/100 g						20					
	Ácido fumárico	mg/100 g	0,729	0,489 - 1,114									

			Ruiz-Rodríguez <i>et al.</i> , 2011		Özcan & Haciseferoğlu <i>et al.</i> * 2007	Orak <i>et al.</i> , 2011	Sulusoglu <i>et al.</i> , 2011	Celikel <i>et al.</i> , 2008	Şerçe <i>et al.</i> , 2010	Barros <i>et al.</i> , * 2010	Cavaco 2007	
		Origem	Espanha		Turquia	Turquia	Trás-os-Montes	Espanha	Espanha	Alentejo	Algarve	
		Unidades	média	min - máx	média ± DP	média ± DP	média ± DP	média ± DP	média ± DP	média ± DP	média ± DP	min - máx
Vit. C	Vitamina C total	mg/100 g	182,4	122,0 - 262,7	231,66 ± 3,52	300		6,03 ± 0,15				
	Ácido ascórbico	mg/100 g	141,9	93,1 - 203,8			6,07 ± 0,31	5,50 ± 0,147				
	Ácido dehidroascórbico	mg/100 g	45,9	traces - 90,8								
Vitamina E	α-tocoferol	mg/100 g					12,89 ± 0,07	0,023 ± 0,001				
	β-tocoferol	mg/100 g					0,18 ± 0,01					
	γ-tocoferol	mg/100 g					0,42 ± 0,02					
Carotenóides	δ-tocoferol	mg/100 g					n.d.					
	Carotenóides	mg/100 g						0,064 ± 0,014	4,3			
	β-caroteno	mg/100 g	0,52	0,219 - 0,890			0,43 ± 0,04	0,025 ± 0,007	0,302 ± 0,12			
	<i>all-trans</i> -neoxantina	mg/100 g							0,236 ± 0,006			
	<i>9-cis</i> -neoxantina	mg/100 g							0,232 ± 0,022			
	Neocromo	mg/100 g							0,216 ± 0,108			
	<i>all-trans</i> -violaxantina	mg/100 g							0,345 ± 0,102			
	<i>9-cis</i> -violaxantina	mg/100 g							0,493 ± 0,01			
	Luteoxanthin	mg/100 g							0,307 ± 0,075			
	Luteoxantina-isomero	mg/100 g							0,647 ± 0,276			
	Anteraxantina	mg/100 g							0,177 ± 0,037			
	Auroxantina	mg/100 g							0,105 ± 0,03			
	Mutatoxantina	mg/100 g							0,055 ± 0,022			
	Luteína 5,6-epóxido	mg/100 g							0,316 ± 0,076			
	<i>all-trans</i> -luteína	mg/100 g							0,382 ± 0,056			
	<i>9-cis</i> -luteína	mg/100 g							0,056 ± 0,03			
	<i>13-cis</i> -luteína	mg/100 g							0,081 ± 0,08			
	<i>all-trans</i> -luteína	mg/100 g							0,382 ± 0,056			
	Licopeno	mg/100 g	0,173	0 - 0,262			nd					
	Luteína + zeaxantina	mg/100 g						0,042 ± 0,009				
	β-Criptoxantina	mg/100 g						trace levels	0,036 ± 0,007			
Ácido elágico	Fenóis totais	mg GAE/100 g	1656	951 - 1973		387,5 ± 6,8						
	Derivados de ác. elágico	mg/100 g						1,54 ± 0,162				
	Ác. elágico - diglucosídeo	mg/100 g						0,22 ± 0,062				
	Ác. elágico - glucosídeo	mg/100 g						0,46 ± 0,019				
	Ác. metilelágico - ramnosídeo + Ác. elágico - arabinosídeo	mg/100 g						0,24 ± 0,040				
Antocianinas	Ácido elágico - xylosídeo	mg/100 g						0,29 ± 0,454				
	Flavonóides	mg CE/g					14,10 ± 0,62	32,37				
	Antocianinas	mg/100 g						3,77 ± 0,856				
	Delfinidina-3-galactosídeo	mg/100 g						0,38 ± 0,112				
	Cianidina-3-galactosídeo	mg/100 g						2,84 ± 0,935				
	Cianidina-3-glucosídeo	mg/100 g						0,12 ± 0,025		0,13 ± 0,015	0,12 - 0,14	
	Cianidina-3-arabinosídeo	mg/100 g						0,41 ± 0,133				
Flavonóis	Delfinidina-3-glucosídeo	mg/100 g								0,44 ± 0,130	0,33 - 0,55	
	Flavonóis	mg/100 g						1,14 ± 0,346				
	Mircetina-3-xilosídeo	mg/100 g						0,17 ± 0,012				
	Quercetina-3-rutinosídeo	mg/100 g						0,15 ± 0,001				
	Quercitina-3-xilosídeo	mg/100 g						0,52 ± 0,031				
Protoantocianidinas	Quercitin-3-rhamnoside	mg/100 g						0,29 ± 0,454				
	Proantocianidinas	mg/100 g						27,46 ± 0,989				
	Galocatequina	mg/100 g						3,64 ± 0,795				
	Galocatequina-4,8-catequina	mg/100 g						1,87 ± 0,254				
	B1	mg/100 g						1,92 ± 0,126				
	B3	mg/100 g						3,03 ± 0,248				
	Ec-Ec-C	mg/100 g						4,52 ± 0,874				
	Catequina	mg/100 g						4,16 ± 0,854				
	B2	mg/100 g						2,84 ± 0,632				
	Epicatequina	mg/100 g						2,89 ± 0,237				
Protoantocianidinas	Ec-Ec-Ec	mg/100 g						0,41 ± 0,052				
	B7	mg/100 g						2,14 ± 0,174				

2.4.1 Teor de humidade

Uma vez que é uma espécie sensível à carência hídrica e de período reprodutivo bastante longo, as condições climáticas podem afetar as taxas de produção e a composição nutricional dos medronhos (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011).

Cavaco (2007) e Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) estudaram a composição nutricional de medronhos maduros colhidos em diferentes anos e em localizações distintas.

No trabalho de Cavaco (2007), apenas se verificaram diferenças significativas dos teores de humidade entre anos de colheita e não entre localidades, possivelmente devido à proximidade das duas (ambas na mesma freguesia). Neste trabalho os teores de humidade encontram-se correlacionados de forma positiva com o valor de luminosidade (L^*) da amostra. Isbilir *et al.* (2012) encontraram teores de humidade mais elevados nos frutos verdes do que em frutos amarelos e vermelhos. No estudo de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011), os valores de humidade do fruto são, em média, mais baixos que a maioria dos frutos convencionais e ocorreram diferenças significativas entre localizações e entre os anos. Segundo os autores, tais diferenças poderão dever-se às diferentes condições ambientais, como a disponibilidade de água, insolação e exposição a ventos, que podem contribuir para a desidratação dos frutos. Os teores de humidade encontrados por Noronha (2001); Özcan & Haciseferoğullari (2007); Cavaco (2007); Barros *et al.* (2010) e Orak *et al.* (2011) em frutos maduros encontram-se dentro da mesma gama de valores.

2.4.2 Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis totais (TSS) reúne os compostos hidrossolúveis nos frutos, como hidratos de carbono, substâncias pécicas (fibras solúveis), vitaminas e lípidos (Kader, 1992).

Nos medronhos maduros, o açúcar solúvel em maior proporção é a frutose, seguido pela glucose. A sacarose ocorre em pequenas quantidades, por vezes abaixo do limite de deteção dos métodos utilizados (Ayaz *et al.*, 2000; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001; Noronha, 2001; Cavaco, 2007; Barros *et al.*, 2010; Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). No trabalho de Alarcão-E-Silva *et al.* (2001), em frutos imaturos, os açúcares solúveis ocorrem em menor quantidade relativamente aos frutos maduros, sendo a sacarose o mais representativo e a frutose o que ocorre em menor proporção.

Comparativamente a outras frutas, os medronhos maduros revelam um perfil invulgar de açúcares solúveis, apresentando uma razão glucose/frutose entre 0,4 e 0,6 (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011) Esta relação também foi encontrada nos trabalhos de Barros *et al.* (2010), Noronha (2001) Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) e Şerce *et al.* (2011). Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) afirmam que isto poderá significar que outros fatores que

não a hidrólise enzimática da sacarose possam estar envolvidos no processo de maturação dos medronhos. Uma vez que a frutose é o mais doce de todos os açúcares naturais, esta característica pode estar relacionada com o sabor doce e agradável dos medronhos quando completamente maduros (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). Nos trabalhos de Ayaz *et al.* (2000) e Cavaco (2007), a referida relação entre os açúcares não se verificou.

Segundo Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011), é notável a estabilidade dos teores de frutose e glucose em 2007 e 2008 nas diferentes localizações. Em 2009, os valores registados foram mais baixos, mas também se revelaram estáveis entre as duas localizações estudadas. Os autores afirmam que possivelmente o teor de água dos frutos, mais elevado neste ano, possa contribuir para a diferença. Nos frutos analisados por Cavaco (2007) não se verificou a constância de valores supracitada, e os teores encontrados para os diferentes açúcares são bastante menores que os valores obtidos por Rodríguez *et al.* (2011), Barros *et al.* (2010) e Noronha (2001). No trabalho de Cavaco (2007) os teores dos diferentes açúcares correlacionaram-se positivamente com o grau de humidade das amostras.

2.4.3 Ácidos orgânicos

Os ácidos orgânicos desempenham um importante papel na manutenção da qualidade e valor nutritivo dos diferentes frutos. Nos medronhos analisados por Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) os teores dos ácidos orgânicos estudados (málico, oxálico, fumárico e ascórbico) apresentaram variações significativas entre anos de colheita e localizações. Os teores de ácido fórmico, acético, láctico e oxálico foram inferiores aos limites de deteção nos medronhos analisados por Cavaco (2007).

Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) descrevem o ácido málico como principal ácido orgânico presente nos medronhos maduros. Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) também encontraram ácido málico em medronhos maduros e imaturos, no entanto em concentrações sempre inferiores ao ácido quínico. No trabalho destes autores o teor de ácido málico é mais elevado nos frutos maduros, ao passo que o ácido quínico está mais presente nos frutos imaturos. Em ambos os trabalhos o ácido fumárico foi encontrado em reduzidas quantidades.

Contrariamente, no trabalho de Ayaz *et al.* (2000) o ácido encontrado em maior proporção foi o fumárico, seguido do málico, láctico e subérico. Encontraram-se também traços de ácido cítrico.

No trabalho de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) foi encontrada uma elevada quantidade de ácido oxálico na composição dos medronhos maduros, no entanto, a sua relação ácido oxálico/cálcio torna o seu consumo seguro.

2.4.4 Fibras

Embora com elevada variação entre anos e localizações, os medronhos são uma fonte muito interessante de fibras alimentares insolúveis e solúveis (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). O teor de fibras solúveis, incluindo pectinas, encontrado para este fruto foi superior aos valores de frutos considerados ricos em pectinas, como maçãs, citrinos, damascos, pêssegos, ameixas, entre outros (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011).

2.4.5 Lípidos e minerais

Barros *et al.* (2010) e Oliveira *et al.* (2011) estudaram a composição dos medronhos em ácidos gordos. Em ambos os trabalhos os ácidos α -linolénico e linoleico foram os mais abundantes, com aumento em importância do α -linolénico com o avançar da maturação e uma evolução contrária do ácido linoleico. Seguindo a tendência do ácido α -linolénico, os ácidos gordos polinsaturados representam a maioria dos ácidos gordos presentes (60%) com uma relação Ω -3/ Ω -6 bastante favorável (Oliveira *et al.*, 2011). Segundo Barros *et al.* (2010) os ácidos gordos α -linolénico e linoleico são ácidos gordos essenciais que têm de ser obtidos através da alimentação, originando ácidos gordos Ω -3 e Ω -6, respetivamente. Estes ácidos reduzem os teores de colesterol no sangue, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (Barros *et al.*, 2010).

A composição mineral dos frutos variou entre 0,7 e 1% do peso em fresco (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011). Os teores de cinzas encontrados por Noronha (2001) e Barros *et al.* (2010) encontram-se dentro do intervalo descrito. Os teores dos minerais analisados são muito variáveis entre estudos. As maiores diferenças ocorrem nos valores de potássio e cálcio, pois medronhos provenientes da Turquia apresentam teores bastante superiores aos medronhos provenientes da península ibérica. Na maioria dos estudos, o potássio foi o macro elemento encontrado em maior quantidade, seguido do cálcio. Os valores de micronutrientes também variam bastante nos vários estudos. Os teores de micronutrientes podem variar largamente dependendo de fatores como precipitação, humidade e composição do solo (Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011).

2.4.6 Compostos anti-oxidantes

Citando Cavaco (2007), as células vivas estão constantemente sujeitas a danos tóxicos resultantes da formação de radicais livres. Estes radicais causam a oxidação das membranas celulares, sendo responsáveis pela ocorrência de diversas doenças, como cancro e doenças cardiovasculares, e processos degenerativos no organismo humano. Os radicais livres são produzidos durante funções como respiração e atividade física, embora a sua formação seja acelerada pela poluição do ar e pelo stress. São altamente reativos e, se não controlados, podem danificar as moléculas importantes das células

saudáveis do corpo humano. O termo antioxidante é utilizado para denominar a função de proteção celular contra os efeitos nefastos dos radicais livres.

A eficiência da função dos antioxidantes derivados da alimentação depende da sua biodisponibilidade e da ingestão de quantidades adequadas desses nutrientes (Cavaco, 2007).

O fruto de *A. unedo* possui várias substâncias de carácter antioxidante: ácidos orgânicos, triterpenóides, fenóis, vitaminas C e E e carotenóides (Ayaz *et al.*, 2000; Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001; Noronha, 2001; Cavaco, 2007; Pallauf *et al.*, 2008; Barros *et al.*, 2010; Fortalezas *et al.*, 2010; Tavares *et al.*, 2010; Ruiz-Rodríguez *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2011; Mendes *et al.*, 2011; Pimpão *et al.*, 2013).

Os ácidos orgânicos (fumárico, láctico, málico, subérico, cítrico e quínico) identificados por vários autores nos medronhos maduros, têm uma função de inibição da reação do radical nos processos de oxidação (Oliveira *et al.*, 2011).

Noronha (2001) procedeu à pesquisa de compostos com atividades biológicas relevantes, encontrando, entre outros, vários triterpenóides com propriedades antioxidantes como α -amirina, lupeol, ácido oleanólico e ácido ursólico.

Os fenóis são metabolitos secundários das plantas que possuem um largo espectro de atividades bioquímicas como antioxidantes, anti-mutagénicos, anti carcinogénicos, pelo que o seu consumo diário é tido como benéfico para a saúde.

Nos medronhos maduros existem polifenóis, como os taninos (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001) e o ácido elágico e derivados (Pallauf *et al.*, 2008; Pimpão *et al.*, 2013). Acredita-se que o ácido elágico, para além de propriedades antioxidantes, tenha também atividade anti-viral e efeitos protetores contra o cancro do pulmão, esófago e cólon (Pallauf *et al.*, 2008).

O ácido fenólico dominante nos frutos de *A. unedo* é o ácido gálico, encontrando-se também os ácidos gentísico, protocatecuico, p-hidroxibenzóico, vanílico e m-anísico (Ayaz *et al.*, 2000). As ações antioxidantes destes ácidos devem-se à transferência de átomos de H ou eletrões para o radical livre, no entanto estes compostos parecem ser mais ativos como antioxidante quando atuam da primeira forma (Oliveira *et al.*, 2011).

Ainda dentro da classe fenóis, os frutos de *A. unedo* exibem na sua composição flavonóides (antocianinas, protoantocianidinas e flavonóis) (Pallauf *et al.*, 2008; Cavaco, 2007). Pallauf *et al.* (2008) quantificaram em 32,37 mg/100 g o conteúdo de flavonóides dos medronhos.

Os flavonoides possuem capacidade de atuar como compostos redutores, bem como agentes quelatantes de metais (Oliveira *et al.*, 2011). As antocianinas ou antocianidinas são pigmentos roxo-azul que protegem as plantas, as flores e os frutos contra a luz ultravioleta (UV) e evitam a produção de radicais livres. São encontrados em

muitas frutas escuras como as framboesas azuis e negras, amoras, cerejas, uvas azuis e negras, entre outros. A cor das antocianinas modifica-se de acordo com alterações nos valores de pH. As antocianinas são um grupo de compostos fenólicos de grande interesse nutritivo e medicinal devido à sua potente atividade antioxidante e possíveis efeitos protetores da saúde humana (Pallauf *et al.*, 2008; Fortalezas *et al.*, 2010).

Pallauf *et al.* (2008) indicam que as antocianinas responsáveis pela cor dos medronhos maduros são cianidinas e glicósidos de delfinidina. Fortalezas *et al.* (2010) referem a cianidina-3-O- β -D-galactopiranosida, a delfinidina-3-O- β -D-glucopiranosida e a cianidina-3-O- β -D-arabinopiranosida como as três principais antocianinas presentes no medronho maduro. Os teores de antocianinas aumentam durante a maturação (Alarcão-E-Silva *et al.*, 2001). Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) indicam que o teor de antocianinas é baixo quando comparado com outras bagas, o que pode dever-se ao facto dos frutos que analisaram não estarem ainda completamente maduros. Pallauf *et al.* (2008) obtiveram valores $3,77 \pm 0,856$ mg/100 g de fruto fresco.

As protoantocianidinas, também chamadas taninos condensados, são flavonoides complexamente polimerizados, naturalmente presentes nos cereais e sementes de leguminosas, sendo particularmente abundantes nalguns frutos e sumos de frutos. São bons agentes redutores, podendo participar na prevenção do cancro a vários níveis. Têm ação protetora de LDLs ("Low Density Lipoprotein") contra a oxidação e são capazes de inibir a agregação plaquetária, prevenindo assim doenças cardiovasculares (Santos-Buelga & Scalbert, 2000).

Os resultados obtidos por Pallauf *et al.* (2008) em medronhos maduros indicam que estes são dos frutos mais ricos em protoantocianidinas. O facto de serem encontradas procianidinas e prodelfinidinas contribui para o interesse deste fruto, pois estes dois grupos de protoantocianidinas, além de atividade antioxidante, apresentam diferentes propriedades biológicas. Outra classe dos flavonoides, os flavonóis estão presentes nos medronhos em níveis comparáveis a produtos como a uva, tomate ou chá verde. Os flavonóis mais abundantes no fruto de *A. unedo* L. são os derivados de quercitina (Pallauf *et al.*, 2008).

Os carotenoides podem ser responsáveis pelas cores amarelas da polpa dos frutos. O teor de carotenoides totais em medronhos maduros foi quantificado no trabalho de Pallauf *et al.* (2008) registando-se um valor de $0,064 \pm 0,014$ mg/100 g de porção edível. A maior parte foi identificada como luteína mais zeaxantina ($0,042 \pm 0,009$ mg/100 g de porção edível) e o restante como β -caroteno ($0,025 \pm 0,007$ mg/100 g de porção edível).

Para além de β -caroteno, também foi detetado licopeno nos medronhos maduros estudados por Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011). Alarcão-E-Silva *et al.* (2000), Pallauf *et al.*

(2008); Barros *et al.* (2010) e também quantificaram pequenas quantidades de β -caroteno, embora nenhum tenha identificado licopeno. Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) encontraram teores crescentes de β -caroteno ao longo do amadurecimento. Delgado-Pelayo & Hornero-Méndez (2010) estudaram a composição dos medronhos maduros em carotenoides e obtiveram valores mais elevados (4,3 mg de carotenoides/100 g de peso fresco). Neste estudo também não se identificou licopeno.

Pallauf *et al.* (2008), Barros *et al.* (2010) e Oliveira (2010) identificaram a presença de vitamina E em medronhos maduros. De acordo com Oliveira (2010) os valores de vitamina E encontrados pelos diversos autores diferem bastante, no entanto as diferentes metodologias utilizadas podem contribuir para as diferenças. Os teores de vitamina E decrescem com o evoluir do estado de maturação (Oliveira, 2010).

As vitaminas C e E são agentes antioxidantes capazes de atuar por transferência do átomo de hidrogénio, transferência de electrão e quelatação de metais, as vitaminas supracitadas formam uma das interações sinérgicas mais eficientes entre compostos antioxidantes (Oliveira, 2010). Esta interação é especialmente importante contra a peroxidação lipídica de lipoproteínas de baixa densidade. Quando a vitamina E é oxidada por um radical livre, o radical-vitamina E formado pode atuar atacando lípidos polinsaturados. Se a vitamina C estiver presente, esta reduz o radical-vitamina E antes de ocorrer a oxidação lipídica. Além disso, foi provado que a presença simultânea das duas vitaminas pode inibir por completo a oxidação de LDL e lípidos do plasma sanguíneo.

Nos medronhos estudados por Ruiz-Rodríguez *et al.*, (2011), de um modo geral, os compostos antioxidantes cujos teores mostraram mais estabilidade foram a vitamina C total e o β -caroteno, ao passo que o ano de colheita foi estatisticamente importante no ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico, fenóis e licopeno que são mais sensíveis à exposição solar, temperatura e outros fatores ambientais. No mesmo trabalho os teores de ácido ascórbico ocorreram inversamente relacionados com os teores de fenóis.

Nos Quadro 4 e Quadro 5 faz-se a comparação dos perfis nutricionais e antioxidantes dos frutos medronho e mirtilo para consumo em fresco.

Os valores do perfil nutricional do medronho baseiam-se no trabalho de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011), por ter sido efetuado na Península Ibérica, tendo em conta localidades distintas e diversos anos. Além disso, os valores obtidos por diversos autores encontram-se dentro dos valores máximos e mínimos descritos no referido trabalho. Outros autores (Celikel *et al.*, 2008; Pallauf *et al.*, 2008; Orak *et al.*, 2011) também são referidos, uma vez que os parâmetros em questão não foram analisados por Rodríguez *et al.* (2011).

Apesar de no trabalho de Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) existirem referências ao teor de taninos e pectinas dos frutos do medronheiro, o facto de se referirem à matéria

seca e a ausência de indicação do teor de humidade impede a sua comparação com os valores referidos para o mirtilo.

Da análise do Quadro 4, constata-se que o medronho é, em média, um alimento nutricionalmente mais rico que o mirtilo, só ficando aquém deste no teor de Manganês e de antocianinas.

Nas últimas décadas têm sido desenvolvidos vários métodos para medir a atividade antioxidante. Os métodos mais comuns incluem o TEAC (Capacidade Antioxidante em Equivalentes Trolox), FRAP (poder antioxidante / redução férrica) e ORAC (Capacidade de Absorvância dos Radicais de Oxigénio). Cada um deles mede aspetos ligeiramente diferentes da capacidade antioxidante (Sousa *et al.*, 2007). O método TBARS mede a concentração de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e tem sido utilizada para estimar a intensidade da peroxidação lipídica (García-Alonso *et al.*, 2004).

Da análise do Quadro 5 constata-se que o mirtilo revela maior poder antioxidante que o medronho nos métodos analisados por García-Alonso *et al.* (2004) (TBARS e TEAC). No entanto, o valor do teste ORAC dos medronhos estudados por Guerreiro *et al.* (2013) é superior ao valor indicado por Sousa *et al.* (2007) para o mirtilo, indicando um maior potencial antioxidante dos primeiros.

Quadro 4 - Comparação do perfil nutricional de mirtilos e medronhos, segundo vários autores.

	Sousa <i>et al.</i> (2007)	Ruiz-Rodríguez <i>et al.</i> (2011)	
	Mirtilo	Medronho	
	média	média	min - máx
Nutrientes (g/100 g peso fresco)			
Humidade	83 - 87	56,48	46,82 - 71,89
Valor energético (Kcal)	51 - 62	101	61,48 - 135,93
Proteínas	0,4 - 0,7	0,899	0,581 - 1,187
Lípidos	0,5	0,609	0,299 - 0,779
TSS	11,3 - 16	15 - 30	(Celikel <i>et al.</i> , 2008)
Glucose	5 - 7	5,51	3,64 - 6,49
Frutose	5 - 7	10,36	2,34 - 14,54
Sacarose	n.d.	0,412	tr - 0,483
Fibra	1 - 1,5	2,95	2,17 - 3,71
Cinzas	0,19 - 0,25	0,864	0,685 - 1,058
Sais minerais (mg/100 g peso fresco)			
Cálcio	11,4 - 12,2	66,54	40,54 - 104,12
Ferro	0,6	0,885	0,354 - 1,856
Magnésio	5,8 - 8,4	19,62	9,56 - 45,85
Fósforo	14 - 47	49,3 ± 7	(Orak <i>et al.</i> , 2011)
Potássio	48 - 112	177,3	79,72 - 323,14
Sódio	3,4 - 4,3	7,52	4,33 - 9,94
Zinco	0,1	0,471	0,188 - 0,762
Cobre	0,1	0,125	0,073 - 0,208
Manganês	0,4 - 1,2	0,081	0,038 - 0,178
Vitaminas e outros componentes (mg/100 g peso fresco)			
Vitamina C	22 - 62	182,4	122,0 - 262,7
Taninos	270 - 550	-	-
Pectinas	300 - 600	-	-
Antocianinas	300 - 725	3,77 ± 0,9	(Pallauf <i>et al.</i> , 2008)

Quadro 5 - Comparação do perfil antioxidante de mirtilos e medronhos, segundo vários autores.

	Sousa <i>et al.</i> (2007)	Guerreiro <i>et al.</i> (2013)
Método	Mirtilo	Medronho
ORAC (mmol TE/100 g)	2,4	3,2
	García-Alonso <i>et al.</i> (2004)	
TBARS (IW ₅₀)	78 µg	≈ 280 µg
TEAC (µmol/g)	187	163

2.5 O processo de maturação dos frutos

O processo de maturação dos frutos envolve importantes alterações no metabolismo celular, promovendo uma sequência de processos coordenados como a formação e degradação de proteínas, degradação de hidratos de carbono de reserva, redução do conteúdo de ácidos orgânicos e polifenóis, mudanças na pigmentação, a síntese de substâncias voláteis e o amolecimento. Durante a maturação, as clorofilas convertem-se em antocianinas e carotenoides, provocando a alteração da pigmentação da pele ou das camadas parenquimáticas do fruto. O adelgaçamento das paredes celulares, a dissolução da lamela média, a perda de turgescência e a degradação de produtos de reserva, levam ao amolecimento do fruto.

A alteração do sabor durante o amadurecimento ocorre em virtude da produção de uma complexa mistura de compostos voláteis que interagem com a produção de outros constituintes maioritários, especialmente açúcares, ácidos orgânicos e compostos fenólicos.

No caso dos frutos climatéricos, um aumento da biossíntese de etileno atua como o sinal fisiológico que marca o início dos processos de amadurecimento.

O etileno é uma hormona vegetal, isto é, um composto orgânico sintetizado numa parte da planta e que, uma vez translocado para outra parte da planta, provoca uma resposta fisiológica, mesmo numa concentração muito baixa. O etileno é um gás nas condições de temperatura e pressão relevantes no contexto da pós-colheita hortofrutícola, provocando efeitos não só na planta ou órgão que o sintetiza, mas também noutros órgãos vegetais localizados nas proximidades.

O processo de amadurecimento de alguns frutos envolve grandes quantidades de etileno, devido a um aumento autocatalítico da síntese de etileno, que ocorre conjuntamente com um aumento da respiração, conhecido como climatérico respiratório. Os frutos são geralmente classificados em climatéricos ou não climatéricos tendo como base o seu padrão de produção de etileno e a sua resposta a adições externas de etileno (Paliyath & Murr, 2008).

Os frutos climatéricos característicos mostram um marcado aumento da produção de etileno e da respiração, perceptível pela evolução da quantidade de CO₂. Em contraste os frutos não climatéricos emitem um nível reduzido de etileno. Nos frutos climatéricos como maçã, pêra, tomate e abacate, a evolução do etileno pode atingir 30 – 500 ppm/(kg/h), enquanto em frutos não climatéricos como laranja, limão, morango e ananás, os níveis de etileno geralmente variam entre 0,1 a 0,5 ppm/(kg/h) durante o amadurecimento (Paliyath & Murr, 2008).

Infeções com patógenos, danos mecânicos e outras situações de stress também provocam um aumento da taxa de produção de etileno.

No Quadro 6 apresenta-se uma classificação de produtos com base na sua taxa de produção de etileno a 20 °C.

Quadro 6 - Classificação dos produtos hortofrutícolas com base na taxa de produção de etileno a 20 °C (adaptado de Kader, 2002)

Classe	Produção a 20 °C ($\mu\text{L.Kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$)	Produtos
Muito Baixa	0,01 - 0,1	Cereja, citrinos, uva, morango, romã, batata, flores de corte, hortícolas de folhas e raízes;
Baixa	0,1 - 1,0	Mirtilo, pepino, quiabo, pimento, diospiro, ananás, framboesa;
Moderada	1,0 - 10,0	Banana, figo, manga, tomate, alguns melões;
Alta	10,0 - 100,0	Maçã, damasco, abacate, meloa, feijoa, kiwi, nectarina, pêssego, papaia, pêra, ameixa;
Muito Alta	> 100	Maracujá, anona.

Em relação ao medronho o trabalho de Santos *et al.* (2013) versou sobre a evolução dos parâmetros de cor e TSS na pós-colheita em medronhos em diferentes estados de maturação ao longo de 21 dias. Os resultados indicaram que o processo de amadurecimento continuou naturalmente após a colheita, levando os autores à conclusão que o medronho poderá ser um fruto climatérico. No entanto, não existem estudos sobre a evolução das taxas respiratória e de produção de etileno que confirmem esta hipótese.

Neste trabalho pretende-se aumentar o conhecimento acerca dos padrões de amadurecimento do medronho, o seu comportamento pós-colheita e averiguar-se se trata ou não de um fruto climatérico.

A cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (FID) é o principal método utilizado para medir a concentração de etileno para efeitos de investigação em biologia vegetal, sendo o método utilizado no presente estudo (Kader, 1992).

3 Material e Métodos

3.1 Caracterização morfológica de clones de medronheiro

3.1.1 Localização do ensaio

Este trabalho decorreu num ensaio da Escola Superior Agrária de Coimbra inserido numa plantação de medronheiros, propriedade do professor Américo Lourenço, localizada no Estreito (Oleiros) no distrito de Castelo Branco. A plantação e ensaio foram instalados em compasso 5 x 4 em outubro/novembro de 2007, pelo que as plantas têm cerca de 6 anos. Encontra-se localizada numa encosta pouco declivosa, voltada a Nordeste (Figura 3). As linhas encontram-se orientadas Norte-Sul.

A 28/02/2013 foi efetuada uma análise ao solo do ensaio que teve como resultados os valores apresentados no Quadro 7.

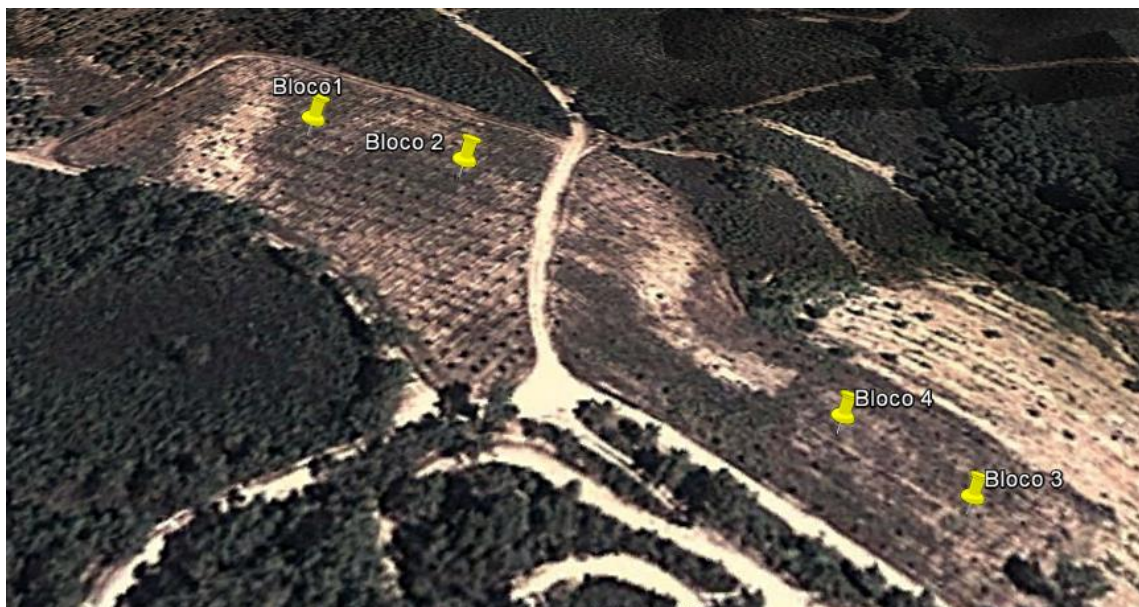


Figura 3 - Plantação de medronheiros (Estreito, Oleiros) Coordenadas: 39°57'38''N 7°48'55,24''O 647 m

Quadro 7 - Resultados da análise ao solo do ensaio

Parâmetros analisados	Classificação*	
Textura manual	Pesada	
Terra fina (%)	68,83	
Matéria Orgânica (%)	4,18	Alto
pH (H₂O)	4,5	Muito ácido
P₂O₅ (mg/Kg)	2	Muito baixo
K₂O (mg/Kg)	50	Baixo
K⁺ (me/100 g)	0,16	Baixo
Na⁺ (me/100 g)	0,14	Baixo
Ca²⁺ (me/100 g)	0,61	Muito baixo
Mg²⁺ (me/100 g)	0,2	Muito baixo
B (mg/1000 g)	< 0,2	Muito baixo

*INIAP- Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva (2006)

3.1.2 Material vegetal

O material vegetal da plantação é constituído por clones de medronheiros selecionados pelo proprietário (AL1, AL2 e AL3) e o clone C1, que foram micropropagados pela Escola Superior Agrária de Coimbra. Existem ainda, no ensaio, plantas provenientes de propagação seminal (SE) que foram adquiridas a um viveiro florestal. O clone C1 foi submetido a vários tratamentos micorrízicos aquando da micropropagação, pelo que existem no pomar várias modalidades do clone C1 (C1 – Clone de Coimbra; C1T – Clone C1 testemunha, ou seja, sem tratamento com micorrizas; C1C – Clone de Coimbra tratado com caldo esporal e C1M – Clone de Coimbra com micélio).

Os clones AL1, AL2, AL3, C1 e as plantas provenientes de propagação seminal (SE) foram adubadas à plantação com 30 g por planta de adubo de libertação lenta 9:23:14 (4; 0,1); N P K (MgO; B).

As plantas destinadas a avaliar os efeitos da micorrização (C1C, C1M e C1T) não tiveram qualquer tipo de fertilização.

Para diluir os efeitos da localização o ensaio foi repetido em quatro blocos casualizados, com 5 árvores de cada tratamento.

3.1.3 Características avaliadas

3.1.3.1 Caracterização do material vegetal

Para caracterizar as árvores do ensaio (Figura 4) foram medidos o diâmetro do tronco ao nível do solo (duas medições), altura da copa e a largura da copa medida paralela e perpendicularmente à linha de plantação. As medições foram efetuadas recorrendo a uma fita métrica para as larguras e uma craveira para o diâmetro do tronco. Decorreram a 22/05/2013.

Com os dados obtidos procedeu-se ao cálculo da área seccional do tronco e volume da copa, através das fórmulas de Wright *et al.* (2006).

$$\text{Área seccional do tronco (cm}^2\text{)} = \pi(\text{diâmetro do tronco}/2)^2$$

$$\text{Vol. da copa (dm}^3\text{)} = \frac{1}{12} \times \pi \times \text{larg. paralela} \times \text{larg. perpendicular} \times \text{altura da copa} \times 1000$$



Figura 4 - Clone de medronheiro.

3.1.3.2 Características das folhas

Das três árvores centrais de cada clone, recolheram-se 4 folhas adultas por árvore, uma em cada quadrante. O procedimento foi repetido nos quatro blocos, recolhendo-se assim um total de 48 folhas por clone. Foram retiradas folhas desenvolvidas no ano anterior, localizadas no terço médio da árvore, e pertencentes ao terço médio do ramo. A colheita foi efetuada a 22/05 e mediram-se a 23/05 as características: pecíolo, comprimento, largura e espessura do limbo (Figura 5). Da

colheita à medição as folhas foram mantidas em frigorífico. Os valores foram agrupados por bloco. As medições foram efetuadas recorrendo a uma craveira MITUTOYO Absolute IP67 com precisão de centésimas de milímetro.

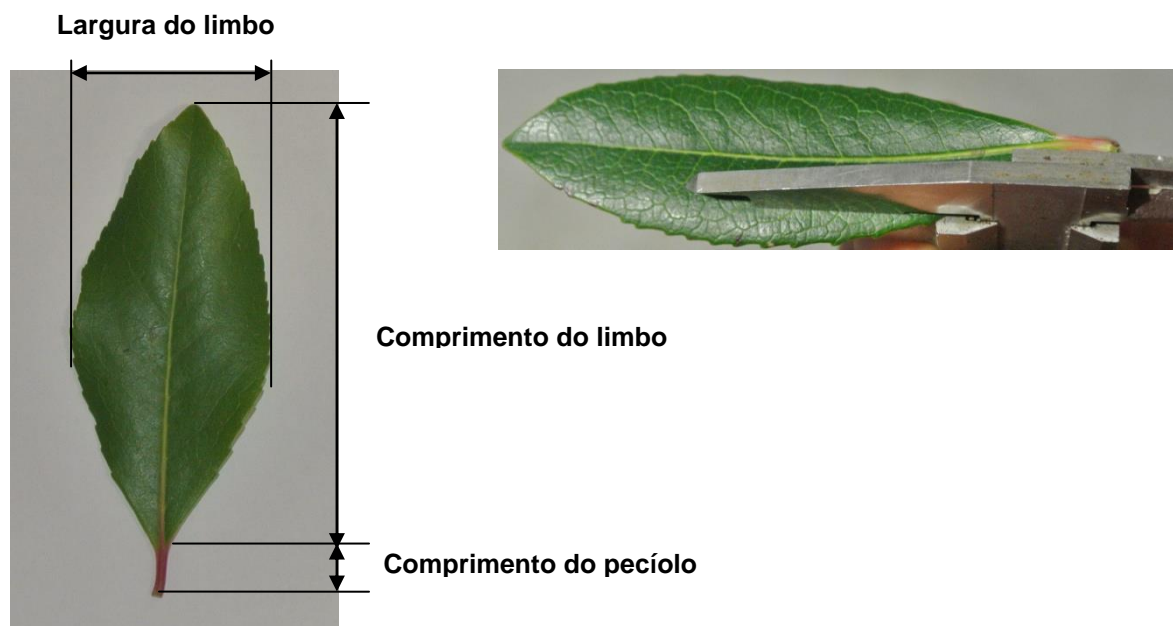


Figura 5 - Dimensões utilizadas na caracterização das folhas.

3.1.3.3 Hábitos de frutificação

Nas árvores que tinham fruto contaram-se os frutos em quatro infrutescências (Figura 6), se as houvesse, selecionando se possível infrutescências localizadas em diferentes quadrantes da árvore. A contagem dos frutos iniciou-se a 9/05 e terminou a 22/05.



Figura 6 - Infrutescência com oito frutos (22-05-2013).

3.1.3.4 Características dos rebentos

Os rebentos de primavera (Figura 7) foram caracterizados com base na cor, através de fotografia, e do número de novas ramificações (rebentos). O número de rebentos foi contabilizado nos ramos em que se contabilizaram o número de frutos por infrutescência (em 3.1.3.3). As contagens decorreram de 9/05 a 22/05.



Figura 7 - Ramo (infrutífero) com seis rebentos.

3.1.3.5 Características dos frutos

Apesar de só ter sido possível a colheita de frutos do clone AL1 (Figura 8), procedeu-se às análises físicas e químicas dos frutos desse clone, como descrito em 3.2.



Figura 8 - Frutos maduros do clone AL1.

3.2 Fisiologia pós-colheita dos frutos

3.2.1 Caracterização físico-química dos frutos

Foram realizadas duas experiências. A primeira (Experiência I) teve início a 29 de Outubro e terminou a 4 de Novembro de 2013, durante este período foram medidas

características físicas e químicas de medronhos em diferentes estados de maturação que foram denominados por Amarelos, Vermelhos claros e Vermelhos (Figura 9). Os frutos utilizados foram colhidos no pomar do proprietário Jorge Simões, localizado em Estreito, Oleiros, no dia 28 de Outubro. Devido ao avançado estado de maturação dos medronhos da categoria Vermelhos todos os frutos foram mantidos a uma temperatura de 0 °C durante o transporte.



Figura 9 - Frutos em diferentes estados de maturação (vermelhos, vermelhos claros e amarelos) colhidos a 28 de Outubro de 2013, utilizados na experiência I.

Como a determinação do etileno produzido e da taxa respiratória (descrita em 3.3) dos medronhos da Experiência I não foi conclusiva procedeu-se à realização da Experiência II.

A Experiência II decorreu de 6 a 11 de Novembro, desta vez com medronhos verdes, amarelos e vermelhos claros (Figura 10). Os frutos foram colhidos no dia 5 de Novembro num povoamento natural localizado em Figueiredo, Porto de Mós. Os frutos permaneceram sempre à temperatura ambiente.

As análises físicas e químicas para avaliar a evolução dos frutos foram realizadas três vezes decorrendo entre as mesmas intervalos de 2 a 3 dias. Utilizaram-se para o efeito amostras de 25 frutos por estado de maturação.



Figura 10 - Frutos em diferentes estados de maturação (verdes, amarelos e vermelhos claros) colhidos a 5 de Novembro de 2013, utilizados na experiência II.

3.2.1.1 Caracterização física

3.2.1.1.1 Peso

Os frutos foram pesados individualmente recorrendo a uma balança KERN 752 com precisão de centésimas de grama.

3.2.1.1.2 Diâmetro

Foram medidos os diâmetros equatoriais e longitudinais dos frutos recorrendo a uma craveira MITUTOYO Absolute IP67 com precisão de centésimas de milímetro.

3.2.1.1.3 Cor

A cor foi medida em duas zonas diferentes do fruto através do colorímetro (Minolta CR400). O colorímetro fornece três valores L^* , a , b , coordenadas de um eixo tridimensional, onde L^* representa a luminosidade e varia de 0 (preto) a 100 (branco). O eixo a representa a cor entre o verde e o vermelho e o eixo b fornece a variação de cor entre o azul e o amarelo.

Calculou-se a média das 2 medições de cada fruto e com o valor médio determinaram-se a tonalidade e a saturação da cor, segundo McGuire (1992), através das seguintes expressões:

$$Tonalidade (h^\circ) = \arctg(a/b) \times (180/\pi) \text{ se } a < 0 \text{ e } b < 0$$

ou

$$Tonalidade (h^\circ) = \arctg(a/b) \times (180/\pi) + 180 \text{ se } a < 0 \text{ e } b > 0$$

$$Saturação (C) = \sqrt{a^2 + b^2}$$

3.2.1.1.4 Firmeza

Mediu-se a firmeza com um penetrómetro DUROFEL-DIGITAL FIRMNESS TESTER, AGRO TECHNOLOGIE, utilizando a ponta 10. Efetuou-se uma medição por fruto. As unidades do aparelho variam entre 0 e 100 unidades DUROFEL (0 corresponde à ponta livre e 100 à ponta completamente pressionada).

Na Figura 11 apresenta-se os instrumentos utilizados nas análises físicas.



Figura 11 - Instrumentos utilizados nas análises físicas: balança KERN, craveira MITUTOYO, colorímetro MINOLTA CR400 e penetrômetro DUROFEL-DIGITAL FIRMNESS TESTER.

3.2.1.2 Caracterização química

As análises químicas foram realizadas após a extração da polpa dos 25 medronhos previamente submetidos às análises físicas. Para tal, os frutos foram esmagados e espremidos manualmente através de pano-cru. Os frutos amarelos foram previamente esmagados recorrendo a um almofariz e pilão de cerâmica, os frutos verdes foram triturados com uma varinha mágica (*Braun*) antes de se proceder à extração da polpa (Anexo 9) Os frutos vermelhos claros e vermelhos foram diretamente esmagados com o pano-cru (Figura 12).



Figura 12 - Extração da polpa dos medronhos através de pano-cru.

3.2.1.2.1. Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis, índice refratométrico, ou grau Brix é frequentemente utilizado para quantificar a percentagem de matéria seca solúvel contida no sumo dos

frutos. A sua determinação foi feita com um refratômetro digital HANNA HI 96801 (escala 0- 85%) a partir da polpa extraída dos medronhos (Figura 13).



Figura 13 - Medição do teor de sólidos solúveis da polpa com refratômetro digital.

3.2.1.2.1 Acidez

Da polpa de medronho retiraram-se duas tomas de 5 g, que equivalem a 5 ml de sumo, uma vez que a densidade da polpa é igual a 1 (Franco, 2013, comunicação pessoal), para copos distintos aos quais se adicionaram 25 cm³ de água destilada. Tais misturas foram submetidas a agitação até se obter a homogeneização.

Para cada uma das tomas, adicionou-se lentamente à “polpa diluída” uma solução decinormal de hidróxido de sódio (0,1 NaOH) recorrendo a uma bureta graduada. Utilizou-se um potenciômetro HANNA pH 213 para acompanhar a subida de pH durante o processo. Após o potenciômetro marcar pH 8,1, procedeu-se ao registo da quantidade de base gasta (Figura 14).

O resultado é expresso em g/L (gramas de ácido málico/ litro de sumo) e é obtido através da expressão:

$$Acidez (g/L) = mL NaOH \times 0,67 \times 2$$

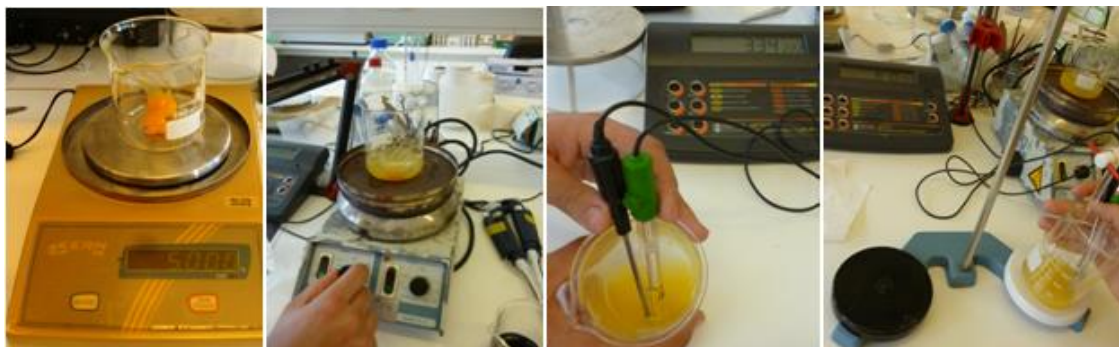


Figura 14 - Pesagem, agitação, medição do pH e titulação da polpa.

3.2.1.2.2 Vitamina C

O teor de vitamina C de um fruto pode ser determinado através da mudança de cor do sumo desse fruto, usando o 2,6 diclorofenolindofenol – DCPIP (Pisoschi *et al.*, 2008) e os valores expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g de polpa (mg/100). Os resultados são obtidos por comparação com uma solução de ácido ascórbico com concentração conhecida. Para tal, pipetaram-se 2 mL de ácido ascórbico para um copo de vidro e a este adicionaram-se volumes conhecidos (100µL, 200µL,...,1000µL) da solução de DCPIP até que a vitamina C mude para azul e permaneça azul por mais de 30 segundos, registando-se depois, a quantidade de DCPIP utilizada. Este procedimento foi repetido 3 vezes para calcular o resultado médio.

Repetiu-se novamente o procedimento, titulando 20 µL de polpa de medronho numa diluição de 1:100 (20 µl de polpa de fruta e 1980 µL de H₂O). Juntou-se o DCPIP à diluição até esta permanecer cor-de-rosa (Figura 15). A coloração rosa ocorre em virtude do pH ácido da polpa dos frutos.

A quantidade de vitamina C foi calculada de acordo com a expressão:

Vitamina C (mg/100 ml de sumo)

$$= \frac{\text{Volume DCPIP gasto} \times 0,29}{\text{Volume de DCPIP para titular } 0,29 \text{ mg de } \text{ác. ascórbico} \times 5000}$$



Figura 15 - Titulação da diluição de polpa com DCPIP.

3.2.1.3 Fenóis

O teor de fenóis totais foi determinado através de análise espectral (Waterhouse, 2002) (Figura 16). Este método baseia-se na capacidade que os compostos fenólicos possuem de absorver luz UV (280 nm). Para tal utilizaram-se cuvettes transparentes a 280 nm de metacrilato. Os resultados obtidos foram comparados com a curva de calibração previamente efetuada para o ácido gálico – Anexo 1.

Efetuuou-se a medição de polpa diluída a 1:100 (30 µl de polpa + 2970 µl H₂O) num espectrofotómetro GENEQUANT pro. Foram feitas 3 repetições por estado de maturação. O teor de fenóis total foi calculado de acordo com a expressão:

$$\text{Ácido gálico}(mg/100 mL) = \frac{\text{Absorvância} + 0,0704}{0,0414 \times 10}$$

(de acordo com a curva de calibração – Anexo 1)



Figura 16 - Medição do teor de fenóis totais.

3.3 Determinação do etileno produzido e da taxa respiratória

3.3.1 Classificação e segregação dos frutos por estado de maturação

Classificaram-se os frutos em função do estado de maturação, utilizando como critério a cor, formando grupos de 20 frutos, em triplicado (Figura 17).

Estado I (verdes): 20 frutos x 3 = 60 frutos

Estado II (amarelos): 20 frutos x 3 = 60 frutos

Estado III (vermelhos claros): 20 frutos x 3 = 60 frutos

Estado IV (vermelhos): 20 frutos x 3 = 60 frutos



Figura 17 - Frutos em diferentes estados de maturação (verdes, amarelos, vermelhos claros, vermelhos) utilizados na determinação do etileno produzido e taxa respiratória.

3.3.2 Determinação da produção de etileno e taxa respiratória

Armazenaram-se os frutos em câmaras à temperatura ambiente (20 ° C) e ~50% HR, durante 7-9 dias.

A evolução dos frutos foi analisada diariamente, mediante avaliação dos seguintes parâmetros: cor, etileno produzido e taxa respiratória. Para tal, colocaram-se 200-250 g de medronhos em frascos de 1L hermeticamente fechados.

Após permanecerem à temperatura ambiente durante uma hora, recolheram-se amostras de 0,5 mL (etileno) e 1 mL (CO₂ e O₂) da fase gasosa, em duplicado (Figura 18), e procedeu-se à análise por cromatografia gasosa (método do *headspace*).



Figura 18 - Colheita de amostras da fase gasosa.

3.3.2.1 Determinação da produção de etileno

Amostras de 250 g de peso fresco, com três repetições por modalidade/grupo, foram colocadas em frascos de 1 L, hermeticamente fechados. As amostras gasosas (0,5 mL, em duplicado) foram recolhidas do *headspace* após um período de acumulação do gás durante uma hora à temperatura ambiente.

A concentração do etileno na amostra de gás foi analisada com um Cromatógrafo Gasoso TRACE Ultra (Thermofisher), equipado com detetor FID e coluna TG-Bond Alumina (30m x 0.53mm DI x 20 µm, Thermo Scientific) (Figura 19). O gás de arraste foi o azoto com um fluxo de 5 mL min⁻¹. A temperatura da coluna foi ajustada para 120°C, a do detetor para 180 °C e a do injetor para 130 °C. O etileno foi identificado e quantificado por comparação com a área do pico de etileno do padrão externo (29 µL.L⁻¹). Os resultados foram expressos em µL C₂H₄ kg⁻¹ h⁻¹.



Figura 19 - Injeção da amostra da fase gasosa em Cromatógrafo Gasoso TRACE Ultra (Thermofisher).

3.3.2.1.1 Determinação do CO₂ produzido e o O₂ consumido

Amostras de 250 g de peso fresco, com 3 repetições por modalidade/grupo, foram colocadas em frascos de 1 L, hermeticamente fechados. As amostras gasosas (1 mL, em duplicado) foram recolhidas do *headspace* após um período de acumulação do gás de 1 h à temperatura ambiente.

A concentração do CO₂ e O₂ na amostra gasosa foi analisada com um Cromatógrafo GC 8000 Top (CE Instruments), equipado com detetor TCD e coluna CTR I (Alltech). O gás de arraste foi o hidrogénio com um débito de 30 mL min⁻¹. A temperatura do detetor foi ajustada para 50° C e a do filamento para 120° C. O injetor e a coluna permaneceram à temperatura ambiente. A quantificação do CO₂ e do O₂ presente nas amostras foi realizada por comparação com a área dos picos do padrão externo (7% CO₂ e 5% O₂). Os resultados foram expressos em mL CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ produzido e mL O₂ kg⁻¹ h⁻¹ consumido.

3.4 Análise Estatística

Calculou-se as médias e erros-padrão para cada parâmetro e de seguida os dados foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA) a um fator (clone, para a descrição morfológica e data após a colheita, para comportamento pós-colheita do fruto), com programa Statistix9 (Analytical Software, Tallahassee, Florida). Para os resultados em que as médias tiveram diferenças significativas na análise de variâncias ($F < 0,05$), foram utilizados os testes de Tukey para comparação múltipla das médias, com $\alpha = 0,05$.

4 Resultados e discussão

4.1 Características dos clones

4.1.1 Desenvolvimento vegetativo

No Quadro 8 encontram-se os valores médios obtidos para os diferentes clones da altura, volume da copa e área seccional do tronco.

Quadro 8 - Altura, volume da copa e área seccional do tronco dos clones.

CLONE	Altura da copa (m)	Volume da copa (dm ³)	Área seccional do tronco (cm ²)
AL1	1,3 ab	291,1	17,2 ab
AL2	1,2 ab	238,7	14,1 ab
AL3	1,1 b	183,7	18,8 a
C1	1,3 a	330,9	17,1 ab
C1C	1,2 ab	236,1	12,2 ab
C1M	1,2 ab	246,2	12,4 ab
C1T	1,2 ab	218,8	11,9 b
SE	1,2 ab	316,2	14,9 ab
Média	1,2	257,7	14,8
Nível de sig.(P)	0,063*	n.s.	0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes.

* apesar do nível de significância ser $>0,05$, o teste de Tukey revelou diferenças significativas entre as médias.

A análise da altura da copa revela que os clones AL1 e C1 possuem copas mais altas e o AL3 a copa menos alta, em média. Os restantes clones apresentam uma altura de copa média de 1,2 m.

Para o parâmetro volume da copa, apesar dos valores médios serem bastante díspares, não foram detetadas diferenças estatísticas entre os clones ou entre os tratamentos micorrízicos do clone C1. Tal ocorre devido à elevada variação apresentada pelas copas das diferentes árvores.

A análise da área seccional do tronco revelou que o clone AL3 apresenta um tronco estatisticamente mais grosso e o clone C1T um tronco mais fino. Os restantes clones e modalidades não revelaram diferenças significativas entre si.

4.1.2 Caracterização morfológica das folhas

No Quadro 9 encontram-se descritas as características das folhas dos diferentes clones do ensaio. No presente trabalho obtiveram-se valores médios de 6,1 cm de comprimento do limbo e largura de 2,5 cm. As dimensões encontradas neste trabalho

para as folhas encontram-se dentro dos valores referidos por Tapum (1980) (comprimento entre 6 e 9 cm e largura entre 2 e 3 cm) e Orwa *et al.* (2009) (comprimento entre 5 e 10 cm) sendo, no entanto, de dimensões inferiores às referidas por Noronha (2001) (comprimento do limbo entre 8 e 12 cm e largura de 6 cm).

Em trabalhos similares ao presente, Celikel *et al.* (2008) obtiveram comprimentos médios de 4,63 a 6,45 cm e larguras entre 1,95 e 2,79 cm em medronheiros da Turquia, Rodrigues (2010) encontrou valores médios de 5,8 cm (variando entre 3,0 e 9,8 cm) para o comprimento do limbo e 2,5 cm (variando entre 1,5 e 4,3 cm) para a largura em folhas de medronheiros do Norte de Portugal. Pinna *et al.* (2011) registaram comprimentos e larguras médios de 5,6 e 2,5 cm, respectivamente, em medronheiros da Sardenha.

Da análise estatística dos dados verifica-se que as folhas do clone AL1 são, em média, mais compridas que as dos restantes clones, sendo que estes não apresentam diferenças estatisticamente relevantes entre si em relação a este parâmetro.

As folhas dos clones AL1 e AL3 são em média mais largas que as dos restantes clones. As folhas do clone C1 são mais estreitas e a largura das folhas do clone AL2 apresenta valores intermédios.

Em relação ao índice comprimento/largura da folha, Celikel *et al.* (2008) obtiveram valores entre 2,19 e 2,82. Rodrigues (2010) encontraram um valor médio de 2,4 com os valores encontrados a variarem entre 1,0 e 4,5.

Neste trabalho o índice comprimento/largura apresentou valores de 2,6 para as folhas de AL1, AL2 e AL3, enquanto as folhas do clone C1 apresentam uma relação C/L de 2,3 que é indicativa de folhas em média mais arredondadas que as encontradas nos restantes clones.

Os pecíolos dos clones avaliados no presente estudo encontram-se dentro da gama de valores descritos na literatura supracitada. O clone AL1 apresenta pecíolos maiores que os restantes clones, e o clone C1 os mais pequenos. AL2 e AL3 apresentam pecíolos de dimensões intermédias e estatisticamente diferentes dos restantes. Orwa *et al.* (2009) indicam para o comprimento do pecíolo um valor de 5 mm. Celikel *et al.* (2008) obtiveram valores de $9,24 \pm 0,58$ mm de média para o comprimento do pecíolo das folhas, Rodrigues *et al.* (2010), encontraram valores de 6,3 mm com valores a variarem de 2 a 14 mm.

A espessura das folhas de medronheiro encontrada por Gratani & Ghia (2002a) foi 395 ± 10 μ m em média. Os valores encontrados por Celikel *et al.* (2008) para a espessura da folha variam entre 270 e 300 μ m.

No trabalho aqui desenvolvido encontraram-se valores médios de espessura da folha de 414,1 μ m. Encontraram-se diferenças significativas entre os clones analisados,

sendo o clone AL1 o que apresenta as folhas mais espessas e o clone C1 apresenta as folhas menos espessas.

É interessante constatar que os clones que apresentam, em média, folhas maiores apresentam também maior espessura da folha e vice-versa. Bacelar *et al.* (2003) referem que para a oliveira var. Arbequina, o facto de ter folhas menos espessas que outras cultivares implica que estas estejam menos protegidas contra a perda de água, mas que o facto de produzir folhas de menores dimensões poderá reduzir a perda de água ao nível de toda a planta.

Quadro 9 - Características físicas das folhas no dia 23/05/2013. Médias do comprimento e largura do limbo, relação comprimento/largura (C/L), pecíolo e espessura.

CLONE	Comprimento (mm)	Largura (mm)	C/L	Pecíolo (mm)	Espessura (µm)
AL1	66,0 a	25,9 a	2,6 a	9,1 a	499,4 a
AL2	60,1 b	23,8 ab	2,6 a	7,0 b	403,3 bc
AL3	59,2 b	25,8 a	2,6 a	6,3 bc	421,9 b
C1	58,2 b	22,6 b	2,3 b	5,9 c	381,7 c
Média	60,9	24,5	2,5	7,1	414,1
EPM	1,26	0,68	0,06	0,26	7,47
Nível de sig.(P)	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, EPM - Erro padrão da média, N = 48 folhas por clone.



Figura 20 - Folhas dos clones.

4.1.3 Hábitos de frutificação, frutos e rebentos de primavera

No Quadro 10 apresenta-se a percentagem de árvores que apresentavam frutos em Maio de 2013. Verifica-se que a menor percentagem de árvores com fruto ocorre nas plantas provenientes de propagação seminal, o que é indicador de uma entrada em produção mais tardia relativamente às plantas micropropagadas. Os clones AL1 e C1 são os que apresentam maior número de árvores em frutificação.

Comparando-se os tratamentos micorrízicos do clone C1, encontra-se uma maior percentagem de árvores com frutos nos tratamentos C1C e C1M do que no tratamento testemunha (C1T), parecendo indicar um melhor estado das plantas alvo de tratamentos micorrízicos.

Quadro 10 - Percentagem de árvores com frutos	
CLONE	Percentagem de árvores com frutos
AL1	55,6
AL2	31,6
AL3	36,8
C1	50,0
C1C	38,9
C1M	35,0
C1T	26,3
SE	10,5

No Quadro 11 apresentam-se o número de infrutescências avaliadas em cada clone, o nº médio de frutos por infrutescência e o número de rebentos que se desenvolviam a partir do gomo originário da infrutescência.

Os valores do número de frutos por infrutescência neste trabalho variaram entre 1 e 18 e o número de rebentos entre 0 e 20. As árvores apresentaram uma média geral de 6 frutos por infrutescência, existindo, no entanto, diferenças entre os clones e tratamentos micorrízicos.

Os rebentos ocorreram em média de 3 por infrutescência, sendo a modalidade C1T a que apresentava em média menos rebentos (1,7) e o clone AL1 tinha um número médio de rebentos estatisticamente superior aos restantes (4,1). Os restantes clones e tratamentos apresentaram valores intermédios que não divergiam estatisticamente entre si.

Quadro 11 - Número de infrutescências, número médio de frutos por infrutescência e número médio de rebentos por infrutescência.

CLONE	Nº de infrutescências	Nº médio de frutos por infrutescência	N.º médio de rebentos por infrutescência
AL1	32	6,2 b	4,1 a
AL2	21	4,7 bc	3,5 ab
AL3	27	2,8 c	3,7 ab
C1	37	6,7 ab	2,4 ab
C1C	23	8,9 a	2,8 ab
C1M	23	6,8 ab	2,1 ab
C1T	20	5,0 bc	1,7 b
SE	8	8 ab	3,5 ab
Média		6,0	3,0
Nível de sig.(P)		<0,000	0,005

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes.

Quanto à frutificação, a modalidade C1C apresentou o maior número médio de frutos por infrutescência (8,9) e o clone AL3 o menor (2,8).

Neste trabalho não se verificou uma relação apreciável entre o número de frutos e o número de rebentos das infrutescências estudadas.

Da análise comparativa entre os tratamentos com micorrizas presentes no ensaio verifica-se que as modalidades micorrizadas no viveiro apresentam maior número de árvores em frutificação (Quadro 10) em média, maior número de frutos por infrutescência e maior número de rebentos do que a modalidade testemunha. Estes dados sugerem que a micorrização em viveiro pode tornar as plantas mais vigorosas e produtivas.

As Figura 21, Figura 22, Figura 23 e Figura 24 são fotografias tiradas a 13 de Maio de 2013 e mostram as diferenças entre as folhas imaturas dos rebentos de primavera dos diferentes clones.

Nas condições do ensaio, os clones AL1 e C1 apresentaram coloração predominantemente verde, não revelando grandes diferenças entre si a nível da coloração dos rebentos. Os rebentos dos clones AL2 e AL3 exibiram uma coloração acastanhada das folhas, sendo que o clone AL3 apresentou esta característica de forma mais intensa.

Para além de uma referência para a identificação dos clones com base em características morfológicas, as características dos rebentos, se não se mostrarem dependentes das condições do meio, podem ser importantes para a utilização dos clones como ornamental.



Figura 21 - Rebentos do clone AL1.



Figura 22 - Rebentos do clone AL2.



Figura 23 - Rebentos do clone AL3.



Figura 24 - Rebentos do clone C1.

Para a elaboração do

Quadro 12 selecionaram-se as infrutescências onde era possível estabelecer claramente um quadrante, retirando-se da análise aquelas que se encontravam em posição ambígua ou no topo da árvore. Verificaram-se diferenças estatisticamente importantes na média de frutos por quadrante, pelo que se conclui que os medronheiros nas condições do ensaio e na época em questão apresentaram uma tendência para a frutificação dos lados oeste e sul da copa, em detrimento do lado norte e este. Esta característica pode estar relacionada com as condições de luminosidade e temperatura, e/ou ventos predominantes experimentadas pelas plantas nas condições do ensaio.

Quadro 12 - Número médio frutos por quadrante

Quadrante	Frutos por quadrante (média)
N	3,0 b
S	6,3 a
E	3,1 b
O	7,4 a
Média	4,98
Nível de sig. (P)	<0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes.

4.1.4 Caracterização dos frutos

Alguns clones de medronheiro presentes no ensaio foram selecionados pelas características interessantes que os seus frutos apresentam.

O clone AL1 possui frutos alongados e mais consistentes que o habitual. Esta característica torna-os mais resistentes à degradação, aguentando mais tempo após terem caído ao chão. O clone AL2 foi selecionado pelo seu potencial de produzir frutos de grandes dimensões (Américo Lourenço, 2013, comunicação pessoal).

Os frutos maduros produzidos pelas plantas-mães AL1 e AL2 foram alvo de análises laboratoriais em 2006 e os valores encontrados encontram-se sintetizados no Quadro 13.

Quadro 13 - Características dos clones de medronheiro AL1 e AL2; frutos produzidos em 2006.

Clone	Características	Diâmetro (mm)		Esfericidade	Peso	TSS	Acidez	pH
		Eq.	Long.	Long./Eq.	(g)	°Brix	ml NaOH	
AL1	Maturação homogênea; Rijo; Resistente à chuva; Resistente à degradação.	20,53	22,97	1,12	5,54	18,8	13,38	3,59
AL2	Frutos de bom tamanho	21,58	20,5	0,95	6,06	19,5	15,5	3,4

No âmbito deste trabalho apenas foram analisados os frutos de AL1, obtendo-se os valores dos Quadro 13 e Quadro 14. As análises foram efetuadas três dias após a colheita, que decorreu durante a tarde de 15 de Novembro. Entre a colheita e as análises os frutos foram mantidos à temperatura ambiente em recipiente aberto.

Quadro 14 - Características físicas dos frutos vermelhos de AL1. Médias e desvios padrão do peso, diâmetro, forma, firmeza, L, tonalidade e saturação.

DATA	Peso (g)	Diâm. (mm)	Forma	Firmeza (Un. Durofel)	L*	Tonalidade	Saturação
AL1 (vermelhos)							
19 Nov.	5,6±2,1	21,9±2,1	1,1±0,05	23,6±21,8	24,8±2,2	27,3±2,7	33,1±3,3

N = 25 frutos

Os frutos de AL1 analisados neste trabalho apresentam médias de peso e diâmetro que se encontram dentro dos valores referidos para a espécie pelos autores citados no Quadro 1. Os valores encontrados neste trabalho não diferem dos valores de peso, diâmetro e forma obtidos em 2006.

O valor da forma dos frutos de AL1 é indicativo de frutos alongados sob o plano longitudinal.

Os valores relativos à cor dos frutos são próximos dos obtidos por Sulusoglu *et al.* (2011) em medronhos maduros e dos valores encontrados para a cor dos medronhos da categoria vermelhos e vermelhos claros analisados no Capítulo 4.2. do presente trabalho.

A firmeza dos medronhos maduros de AL1 mostrou-se em média superior aos medronhos maduros (vermelhos) analisados em 4.2., confirmando a informação avançada no quadro 10. A maior firmeza dos frutos maduros é uma característica desejada, uma vez que permitiria prolongar a vida de prateleira dos medronhos para consumo em fresco.

Quadro 14 - Características químicas dos frutos vermelhos de AL1. Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).

DATA	TSS (%)	pH	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100 mL)	Fenóis (mg/100 mL)
AL1 (vermelhos)					
19 Nov.	24,1	3,36±0,01	11,2±0,4	271±16,7	359±20,5

N = 25 frutos

O valor de TSS encontrado na polpa dos frutos de AL1 encontram-se na gama de valores indicada pela literatura, assim como o pH da polpa, no entanto os valores encontrados são diferentes dos obtidos em 2006, revelando um maior TSS e um pH inferior. A acidez titulável também foi inferior ao valor encontrado em 2006.

O teor de vitamina C é da ordem de valores descritos por Celikel *et al.* (2008), Serçe *et al.* (2010) e Ruiz-Rodriguez *et al.* (2011), sendo considerada pelos últimos autores um valor consideravelmente alto.

O teor de fenóis totais é bastante inferior aos valores encontrados por Ruiz-Rodriguez *et al.* (2011) e indicados por Oliveira *et al.* (2011), sendo da ordem do valor referido por Serçe *et al.* (2010), no entanto a diferença entre os valores pode dever-se aos diferentes métodos utilizados. Os teores de vitamina C e fenóis totais estão dentro da gama de valores encontrados nos medronhos utilizados na caracterização da fisiologia pós-colheita (capítulo 4.2.1 do presente trabalho).

4.2 Fisiologia pós-colheita dos frutos

4.2.1 Caracterização físico-química dos frutos

4.2.1.1 Experiência I

4.2.1.1.1 Caracterização física

No Quadro 15 mostram-se as características físicas medidas no primeiro dia da experiência I.

Quadro 15 - Características físicas dos medronhos da experiência I no 1º dia (29/10/2013). Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação.

FRUTOS	Peso (g)	Diâm. (mm)	Forma	Firmeza (Un. Durofel)	L*	Tonalidade	Saturação
Amarelos	5,9	21,8	1,06	64,6 a	41,9 a	41,3 a	39,2
Vermelhos claros	6,0	21,6	1,07	21,4 b	31,6 b	29,2 b	43,8
Vermelhos	6,6	21,4	1,10	8,6 c	26,3 c	25,9 b	38,7
Media	6,2	21,6	1,1	31,5	33,2	32,1	40,5
EPM	0,39	0,47	0,02	3,10	0,82	1,56	1,69
Nível de sig. (P)	n.s.	n.s.	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	n.s.

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, EPM - Erro padrão da média, N = 25 frutos por estágio de maturação. Unidades Durofel variam entre 0 e 100.

Na experiência I, os medronhos colhidos em diferentes estados de maturação não apresentavam diferenças significativas nas médias de peso, diâmetro, forma e saturação da cor. Os valores encontrados para as referidas características não diferem dos encontrados em trabalhos anteriores.

As diferenças entre as médias mostraram-se significativamente relevantes ao nível da firmeza, e dos parâmetros da cor luminosidade (L*) e tonalidade.

Em relação à firmeza, verifica-se que esta atinge valores progressivamente menores conforme o avanço do estado de maturação. Nesta experiência os medronhos mais consistentes eram os amarelos. Os vermelhos claros apresentaram uma firmeza intermédia e os vermelhos um valor médio bastante reduzido. Os valores de luminosidade da cor dos medronhos analisados são, em média, inferiores aos valores obtidos nos trabalhos compilados no Quadro 2. Ainda assim, os valores obtidos para os medronhos da categoria vermelhos claros e vermelhos encontram-se no intervalo de valores indicado por Sulusoglu *et al.* (2011). Os medronhos maduros utilizados no trabalho de Guerreiro *et al.* (2013) e Santos *et al.* (2013) também apresentaram valores de L superiores aos medronhos vermelhos e vermelhos claros utilizados neste estudo.

Os valores da tonalidade obtidos nesta experiência são decrescentes com o avançar do estado de maturação, indicando um aumento da cor vermelha no exterior dos frutos. No Quadro 16 e nas figuras 26, 27 e 28 mostram-se os valores dos parâmetros físicos dos medronhos da primeira experiência obtidos em pós-colheita.

Quadro 16 - Características físicas dos medronhos da experiência I nos dias 29 e 31 de Outubro e 4 de Novembro. Média de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação.

DATA	Peso (g)	Diâm. (mm)	Forma	Firmeza (%)	L*	Tonalidade	Saturação
AMARELOS							
29 Out.	5,9	21,8 a	1,06	64,6 a	41,9 a	41,3 a	39,2
31 Out.	5,5	21,1 ab	1,07	55,8 a	42,1 a	42,9 a	36,6
4 Nov.	5,1	20,1 b	1,11	19,4 b	29,2 b	29,0 b	39,3
Media	5,5	21,0	1,08	46,6	37,7	37,7	38,4
EPM	0,31	0,41	0,02	5,00	1,13	2,15	1,91
Nível de sig. (P)	n.s.	0,022	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	n.s.
VERMELHOS CLAROS							
29 Out.	6,0 a	21,6 a	1,07	21,4 a	31,4 a	29,2 a	43,8 a
31 Out.	5,9 a	21,8 a	1,06	21,1 a	27,3 b	24,7 b	42,9 a
4 Nov.	4,4 b	18,8 b	1,12	3,4 b	21,5 c	22,2 c	34,3 b
Media	5,5	20,7	1,08	15,3	26,7	25,3	40,3
EPM	0,31	0,43	0,02	2,88	0,66	0,59	1,08
Nível de sig. (P)	<0,001	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
VERMELHOS							
29 Out.	6,6 a	21,3 a	1,1	8,6	26,3 a	25,9 a	38,7 a
31 Out.	6,4 a	21,2 a	1,1	1,9	24,8 a	24,8 a	36,6 a
4 Nov.	5,3 b	19,7 b	1,1	3,7	19,4 b	19,3 b	31,3 b
Media	6,1	20,7	1,1	4,7	23,5	23,3	35,5
EPM	0,39	0,41	0,02	2,2	0,55	0,62	1,22
Nível de sig. (P)	0,04	0,01	n.s.	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, EPM - Erro padrão da média, N = 25 frutos por estado de maturação.

Em relação ao peso, verifica-se um decréscimo progressivo e significativo nos estados de maturação vermelhos claros e vermelhos analisados experiência I. No trabalho de Guerreiro *et al.* (2013) também se verificou um decréscimo de peso nos medronhos em pós-colheita, sendo referido que tal se deve à perda de humidade dos frutos.

As Figura 25, Figura 26 e Figura 27 esquematizam a evolução da firmeza, tonalidade e luminosidade dos medronhos nos diferentes estados de maturação. Verifica-se um decréscimo destes parâmetros em todos os estados de maturação avaliados nesta experiência, o que indica que os medronhos se tornaram mais moles, vermelhos e escuros em pós-colheita. As mesmas alterações ao nível da cor foram encontradas no trabalho de Guerreiro *et al.* (2013) e Santos *et al.* (2013). Segundo Guerreiro *et al.* (2013) a diminuição da luminosidade dos medronhos pode dever-se ao facto de componentes dos frutos, como aminoácidos e compostos fenólicos, estarem relacionados com o fenómeno de acastanhamento enzimático. Estes autores também registaram um decréscimo de firmeza em medronhos em pós-colheita.

A evolução do aspeto dos medronhos utilizados na experiência I encontra-se registada em fotografia nos Anexos 2, 3 e 4.

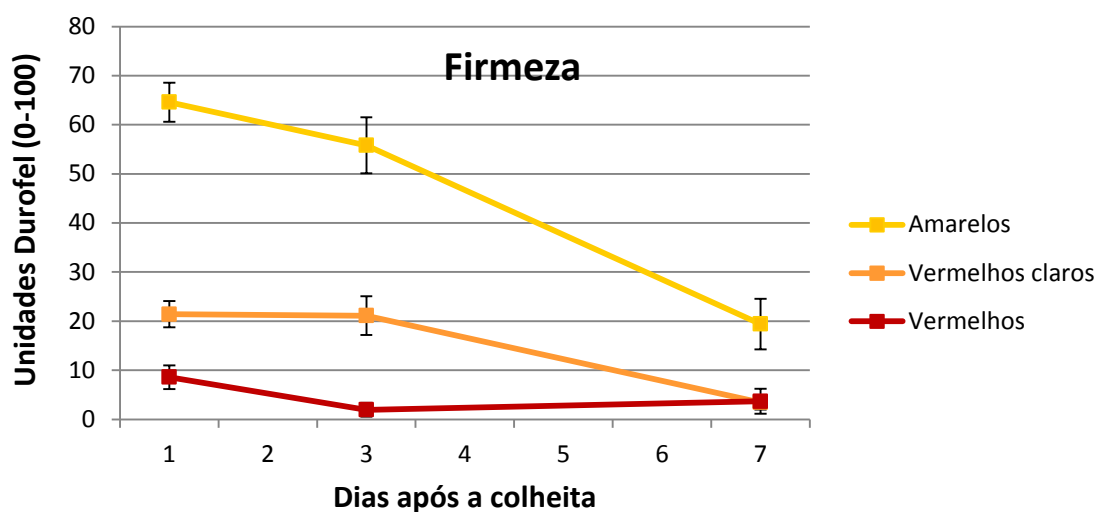


Figura 25 - Evolução da firmeza nos medronhos da experiência I.

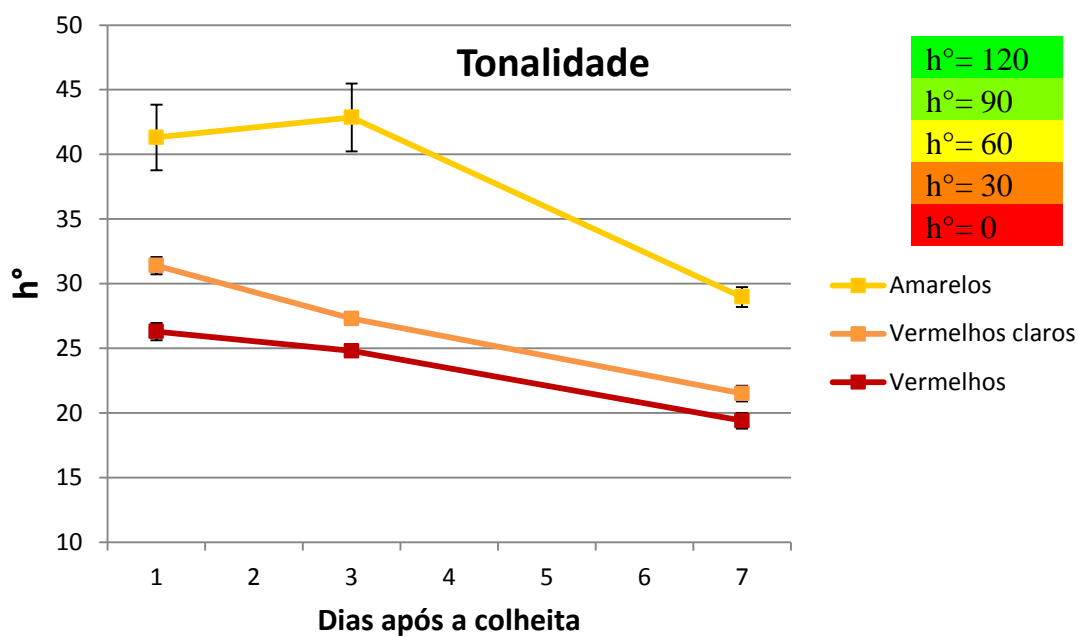


Figura 26 - Evolução da tonalidade nos medronhos da experiência I.

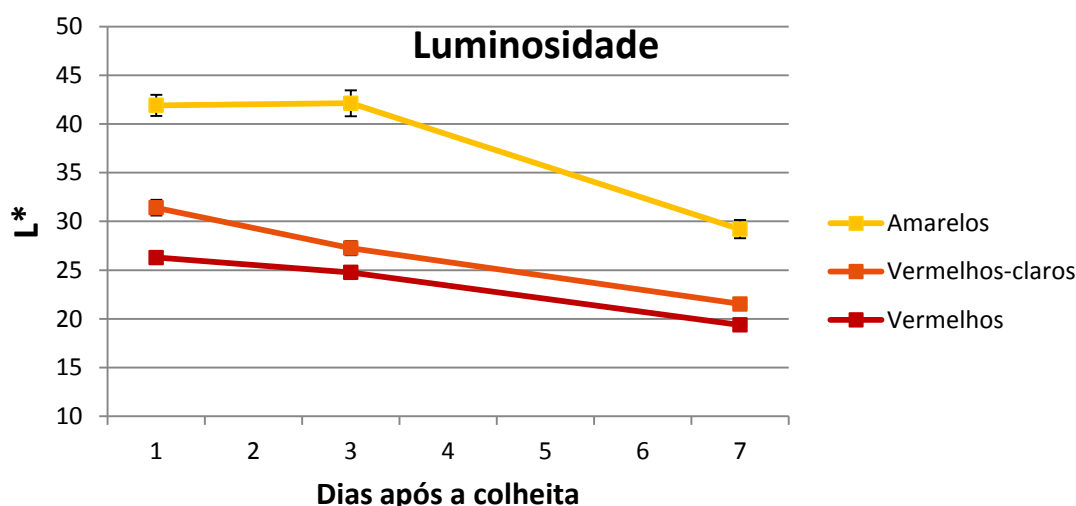


Figura 27 - Evolução da luminosidade nos medronhos da experiência I.

4.2.1.1.2 Caracterização química

No Quadro 17 apresenta-se as características químicas dos medronhos da experiência I, no primeiro dia.

Quadro 17 - Características químicas dos medronhos da experiência I no 1º dia (29/10/2013). Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).

FRUTOS	TSS (%)	pH	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100 mL)	Fenóis (mg/100 mL)
Amarelos	22,9	2,89±0,01	10,32±0,09	203±0,0	312±9,37
Vermelhos claros	21,7	3,32±0,04	8,7±0,0	222±16,74	291±56,30
Vermelhos	21,8	3,38±0,0	8,4±0,0	237±16,74	237±25,78

Os valores de TSS encontrados para os medronhos analisados encontram-se dentro da gama de valores apontados por grande parte da bibliografia.

Cavaco *et al.* (2007) indicam que os medronhos usados na produção de aguardente apresentavam entre 12 e 23 °Brix. Os frutos dos medronheiros estudados por Celikel *et al.* (2008) apresentaram valores de TSS compreendidos entre 15 e 30 °Brix. Cavaco (2007) encontrou valores de 22,71 ± 3,179 °Brix em medronhos maduros, enquanto Pimpão *et al.* (2013) obtiveram valores de 27,8 ± 0,1 °Brix. Valores entre 14 e 32 °Brix são referidos por Sulusoglu *et al.* (2011). No trabalho de Cavaco (2007) constata-se que os valores de TSS são estatisticamente diferentes de acordo com o ano e o local da colheita. Nos medronhos maduros analisados por Guerreiro *et al.* (2013) o TSS à colheita rondava 22 °Brix.

Os valores de TSS obtidos no presente estudo não diferem muito entre os estados de maturação avaliados. No trabalho desenvolvido por Santos *et al.* (2013) com

medronhos da mesma exploração os frutos em estado mais avançado de maturação situavam-se entre os que classificamos como amarelos e vermelhos claros, e o TSS obtido foi 22 °Brix.

O valor de pH mais alto encontrado nos estudos consultados foi $5,57 \pm 0,07$ (Serçe *et al.* 2010). Os medronhos analisados por Cavaco (2007) tinham em média um valor de pH de $3,72 \pm 0,751$, com valores a variarem entre 3,2 e 4,7. Neste trabalho, verificaram-se diferenças significativas do valor de pH entre anos e locais de colheita. Os valores de pH obtidos por Noronha (2001), Özcan & Haciseferoğullari (2007), Ruiz-Rodrigues *et al.* (2011) e Sulusoglu *et al.* (2011) situam-se dentro do intervalo supracitado.

Isbilir *et al.* (2012) analisaram o pH em frutos verdes, amarelos e vermelhos, não encontrando diferenças significativas entre os diferentes estados de maturação. O pH nesse estudo rondou 4,72.

O pH encontrado nos frutos analisados encontra-se dentro dos valores encontrados em estudos anteriores para o caso dos frutos vermelhos e vermelhos claros. Nos frutos amarelos o pH mostrou-se próximo, mas inferior ao limite anteriormente descrito para frutos maduros.

No trabalho de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) a acidez titulável foi muito variável entre anos e localizações (56,4 – 140,5 mL N/10 NaOH por 100 g peso fresco), mostrando-se inversamente proporcional à humidade dos frutos. Isbilir *et al.* (2012) encontraram maior acidez em medronhos amarelos, do que em verdes e vermelhos, que tinham praticamente a mesma acidez. Sulusoglu *et al.* (2011) e Celikel *et al.* (2008) obtiveram valores de acidez entre 0,48 e 1,59 % de ácido málico.

Nos medronhos analisados nesta experiência as quantidades de NaOH gastas para titular a polpa dos medronhos foi inferior aos valores indicados por Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011), no entanto os valores de acidez expressa em percentagem de ácido málico estão dentro do intervalo de valores encontrados em trabalhos anteriores. Os medronhos amarelos foram os que apresentaram maior acidez, seguidos dos vermelhos claros. No trabalho de Isbilir *et al.* (2012) os medronhos amarelos também foram os que revelaram maior acidez, sendo estatisticamente superior à acidez dos medronhos vermelhos.

Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) encontraram valores de vitamina C consideravelmente altos (122–262 mg/100 g) em medronhos maduros, concluindo que 50 g de fruto cru satisfazem a dose diária recomendada de vitamina C para um adulto. Nesse trabalho, o teor de vitamina C foi mais influenciado pela localização do que pelo ano de colheita e os dados obtidos nos três anos do estudo indicam que o ácido ascórbico é a vitamina predominante no medronho, ocorrendo sempre em percentagem superior a 56 % do total de vitaminas.

Os medronhos analisados por Celikel, *et al.* (2008) apresentaram valores de 97,8 a 280 mg/100 g de Vitamina C, enquanto Serçe *et al.* (2010) obtiveram valores de 300 mg/100 g.

Valente *et al.* (2011) encontraram valores médios de 117 mg /100g de vitamina C na parte edível, o valor mais elevado dos 26 frutos que estudaram.

Pallauf *et al.* (2008) e Barros *et al.* (2010) também quantificaram a vitamina C em medronhos maduros obtendo, no entanto, resultados bastante inferiores ($6,03 \pm 0,15$ e $6,07 \pm 0,31$, respetivamente). Estes valores, apesar de não serem elevados, são comparáveis aos teores típicos para maçãs, pêssegos e cerejas (Pallauf *et al.*, 2008). De acordo com Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) os teores de ácido ascórbico são mais baixos nos medronhos maduros do que em medronhos imaturos.

Os valores de vitamina C obtidos nos medronhos analisados na experiência I, encontram-se dentro da gama de valores registada em trabalhos anteriores, com exceção dos estudos de Pallauf *et al.* (2008) e Barros *et al.* (2010) que obtiveram valores bastante inferiores aos nossos.

Contrariamente à relação encontrada por Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) entre o teor de vitamina C e o estado de maturação, os medronhos analisados no primeiro dia da experiência I apresentaram teores de vitamina C relativamente próximos entre si.

Nos medronhos analisados por Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) a quantidade de fenóis presentes nos medronhos analisados variou entre 951,7 e 1973,6 mg GAE/100 g de fruto fresco, valores considerados muito elevados, mesmo quanto comparados com frutos considerados ricos em fenóis como mirtilos, que exibiam 670 mg GAE/100 g no trabalho de Marinova *et al.* (2005). Oliveira *et al.* (2011b) indicam um valor de fenóis totais de 864 mg GAE/100 g de peso fresco em medronhos. Serçe *et al.* (2010) encontraram $387,5 \pm 6,8$ mg GAE/100 g de fenóis totais em frutos maduros.

Os resultados obtidos por Alarcão-E-Silva *et al.* (2000) indicam que o teor de fenóis totais tende a decrescer ligeiramente durante o processo de amadurecimento dos medronhos. Oliveira *et al.* (2011) estudaram a evolução do teor de fenóis totais em medronhos em diferentes estados de maturação, concluindo que o estado intermédio apresenta os maiores teores, cerca do dobro do valor registado nos medronhos maduros e imaturos. No entanto, Isbilir *et al.* (2012) encontraram os menores teores de fenóis nos medronhos amarelos, enquanto os medronhos vermelhos e verdes apresentavam teores mais elevados e semelhantes entre si.

Na experiência I os teores de fenóis totais foram bastante inferiores aos valores obtidos por Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) ou Oliveira *et al.* (2011), sendo apenas comparáveis aos valores obtidos por Serçe *et al.* (2010). No primeiro dia da experiência I, os medronhos menos maduros (amarelos) apresentavam maior teor de fenóis totais que

os mais maduros, confirmando a tendência apontada por Alarcão-E-Silva *et al.* (2000) e Oliveira *et al.* (2011).

No trabalho de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) os teores de ácido ascórbico ocorreram inversamente relacionados com os teores de fenóis, tendência que também parece ocorrer na experiência I.

No Quadro 18 encontram-se os valores obtidos em medições efetuadas com o sentido de averiguar a evolução pós-colheita dos parâmetros químicos dos medronhos colhidos na experiência I.

O teor de sólidos solúveis totais (TSS) e o pH mostraram uma evolução positiva em todos os estados de maturação, aumentando o seu valor durante o tempo de pós colheita, ao passo que a acidez titulável seguiu a tendência inversa, mostrando-se decrescente.

Quadro 18 - Características químicas dos medronhos da experiência I nos dias 29 de Outubro, 1 e 4 de Novembro de 2013. Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL)

DATA	TSS (%)	pH	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100 mL)	Fenóis (mg/100 mL)
AMARELOS					
29 Out.	22,9	2,89±0,01	10,32±0,09	203±0,0	312±9,3
1 Nov.	25,4	3,3±0,01	10,05±0,0	232±0,0	401±18,6
4 Nov.	25	3,35±0,0	9,98 ±0,09	222±16,7	404±37,1
VERMELHOS CLAROS					
29 Out.	21,7	3,32±0,04	8,7±0,0	222,3±16,7	291±56,3
1 Nov.	24,5	3,47±0,02	7,2±0,0	183,7±16,7	317±24,3
4 Nov.	26,1	3,47±0,01	7,4±0,09	174±0,0	334±18,5
VERMELHOS					
29 Out.	21,8	3,38±0,0	8,4±0,0	237±16,7	237±25,8
1 Nov.	22,3	3,38±0,04	7,3±0,3	203±0,0	344±47,8
4 Nov.	24,1	3,46±0,01	6,63±0,09	184±16,74	371±11,1

Santos *et al.* (2013) registaram a mesma tendência em relação ao TSS dos medronhos imaturos, no entanto os medronhos mais maduros utilizados no seu trabalho (estado de maturação entre amarelos e vermelhos claros), apresentaram um TSS estável e sem alterações (≈ 22 °Brix) ao longo dos 21 dias da experiência, o que não ocorreu neste trabalho. Por outro lado, Guerreiro *et al.* (2013) estudaram a evolução pós-colheita de medronhos maduros a baixas temperaturas e também verificaram aumentos de TSS da ordem dos ocorridos no presente trabalho.

A evolução do TSS, pH e acidez titulável pode ser explicada pelo processo de neoglucogénese, no qual o amido e os ácidos orgânicos são reconvertidos em açúcares durante a maturação dos frutos (Sharma *et al.*, 2008).

Os teores de vitamina C mostraram-se relativamente estáveis nos medronhos amarelos e apresentam uma tendência ligeiramente decrescente nos medronhos vermelhos claros e amarelos. Sendo um ácido orgânico, o ácido ascórbico poderá ser degradado durante o amadurecimento, levando ao decréscimo do seu teor nos frutos. Alarcão-E-Silva *et al.* (2000) também encontraram maiores teores de vitamina C nos medronhos imaturos.

Da comparação dos Quadros 17 e 18, percebe-se uma evolução divergente entre a evolução dos teores de vitamina C. As medições efetuadas à colheita indicam um aumento da vitamina C com o avançar da maturação, enquanto os resultados obtidos em pós-colheita revelam uma diminuição dos teores de vitamina C durante o tempo de prateleira, sugerindo que a evolução deste composto possa estar relacionada com a respiração dos ácidos orgânicos no período após a colheita.

O teor de fenóis aumentou na pós-colheita de todos os estados de maturação analisados na experiência I, aproximando-se mais do valor encontrado por Serçe *et al.* (2010). De acordo com Sharma *et al.* (2008), o conteúdo fenólico dos frutos é altamente influenciado pelo grau de maturação, cultivar, condições de armazenamento e fatores ambientais. Os mesmos autores referem que Gonçalves *et al.* (2004) encontraram um aumento nos teores de fenóis de cerejas armazenadas a 15 ± 5 °C. No trabalho de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) os teores de ácido ascórbico ocorreram inversamente relacionados com os teores de fenóis. Para além da mesma tendência se verificar no primeiro dia da experiência I, parece continuar a verificar-se na pós-colheita desses frutos, uma vez que os dois parâmetros apresentaram evoluções opostas.

4.2.1.2 Experiência II

4.2.1.2.1 Caracterização física

No

Quadro 19 apresentam-se as características físicas medidas no primeiro dia da experiência II.

Quadro 19 - Características físicas dos medronhos da experiência II no 1º dia (06/11/2013). Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação.

FRUTOS	Peso (g)	Diâm. (mm)	Forma	Firmeza (Un.Durofel)	L*	Tonalidade	Saturação
Verdes	3,0 c	17,9 b	1,0 b	91,4 a	47,3 b	109,9 a	13,3 b
Amarelos	4,9 a	20,7 a	1,1 ab	77,1 b	53,9 a	75,4 b	11,5 b
Vermelhos claros	4,1 b	19,0 b	1,1 b	38,9 c	37,7 c	37,7 c	40,4 a
Media	4,0	19,2	1,1	69,1	46,3	74,3	21,7
EPM	0,21	0,35	0,01	3,05	0,81	1,38	1,17

Nível de sig. (P)	<0,001	<0,001	0,018	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
-------------------	--------	--------	-------	--------	--------	--------	--------

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, EPM - Erro padrão da média, N = 25 frutos por estado de maturação. Unidades Durofel variam entre 0 e 100.

Os pesos médios dos medronhos encontram-se dentro dos valores descritos por Şeker *et al.* (2004) e Sulusoglu *et al.* (2008) para medronhos maduros. De notar, no entanto, que os medronhos utilizados na experiência II eram bastante mais pequenos do que os da experiência I.

Os medronhos colhidos na experiência II apresentavam pesos estatisticamente diferentes entre estados de maturação. Os medronhos mais leves em média eram os verdes, e os mais pesados os amarelos, estas diferenças refletiram-se também nos diâmetros médios dos frutos uma vez que o diâmetro dos frutos amarelos é estatisticamente maior que o dos restantes.

Em relação à firmeza, surgiram diferenças estatisticamente significativas entre os estados de maturação avaliados. Os medronhos verdes encontravam-se mais consistentes que os amarelos e estes mais que os vermelhos claros. O amolecimento é típico do amadurecimento dos frutos, devendo-se à ocorrência de alterações na estrutura e composição das paredes celulares, com a degradação da celulose, dos constituintes pécnicos e do amido (Sharma *et al.*, 2008).

Em relação aos parâmetros da cor, os valores obtidos para os diferentes estados de maturação encontram-se dentro da gama de valores obtidos por Isbilir *et al.* (2004), que foram os únicos autores que estudaram a cor dos medronhos exatamente nos mesmos estados de maturação avaliados da experiência II.

Tal como neste trabalho, os valores de luminosidade (L^*) foram superiores nos medronhos amarelos, indicando que a cor destes possui um maior brilho que os restantes estados de maturação. O parâmetro tonalidade é decrescente com o avançar da maturação, indicando uma mudança de tonalidades verde amareladas para os laranjas e vermelhos. Tal como no trabalho aqui desenvolvido, também a saturação da cor se revelou mais elevada nos medronhos vermelhos claros do que nos outros estados avaliados.

No Quadro 20 e nas Figuras 25, 26 e 27 sintetiza-se a evolução dos parâmetros físicos na pós-colheita dos medronhos da experiência II.

As alterações de peso e dimensões em pós-colheita só foram estatisticamente significativas no caso dos medronhos verdes. Apesar de Guerreiro *et al.* (2013) terem registado uma diminuição de peso na pós-colheita de medronhos que se assumiu ser devida à perda de água, não podemos afirmar que o mesmo se tenha passado neste trabalho, uma vez que os frutos pesados em cada dia não eram os mesmos.

Quadro 20 - Características físicas de medronhos da experiência II nos dias 6, 8 e 11 de Novembro. Médias de peso, diâmetro, forma, firmeza, L*, tonalidade e saturação.

DATA	Peso (g)	Diâm. (mm)	Forma	Firmeza (Un. Durofel)	L*	Tonalidade	Saturação
VERDES							
6 Nov.	3,0 a	17,9 a	1,0	91,4 b	47,3	109,9 a	13,3 a
8 Nov.	3,2 a	18,0 a	1,1	98,0 a	45,3	89,0 b	6,4 b
11 Nov.	2,5 b	16,3 b	1,1	91,9 b	47,2	92,6 b	6,9 b
Media	2,9	17,4	1,1	93,8	46,6	97,1	8,9
EPM	0,14	0,29	0,02	1,18	0,79	2,19	0,83
Nível de sig. (P)	0,001	<0,001	n.s.	<0,001	n.s.	<0,001	<0,001
AMARELOS							
6 Nov.	4,9	20,7 a	1,1	77,1 a	53,9 a	75,4 a	11,5 b
8 Nov.	4,6	19,9 ab	1,1	59,8 b	40,5 b	45,0 b	33,8 a
11 Nov.	4,4	19,2 b	1,1	26,7 c	32,0 c	37,0 c	36,9 a
Media	4,6	19,9	1,1	54,5	42,1	52,5	27,4
EPM	0,26	0,34	0,01	4,91	1,02	2,27	1,43
Nível de sig. (P)	n.s.	0,011	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
VERMELHOS CLAROS							
6 Nov.	4,1	19,0	1,1	38,9 a	37,7 a	37,7 a	40,4 a
8 Nov.	3,9	18,4	1,1	18,6 b	28,6 b	30,3 b	37,6 ab
11 Nov.	4,2	18,5	1,1	6,5 c	26,4 b	29,7 b	34,8 b
Media	4,1	18,6	1,1	21,3	30,9	32,6	37,6
EPM	0,24	0,41	0,02	4,14	0,82	1,12	1,28
Nível de sig. (P)	n.s.	n.s.	n.s.	<0,001	<0,001	<0,001	0,011

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, EPM - Erro padrão da média, N = 25 frutos por estado de maturação.

Na Figura 28 mostra-se graficamente a evolução da firmeza na pós-colheita dos medronhos da experiência II.

Da análise do gráfico da Figura 29 constata-se que, tal como na experiência I, os medronhos amarelos e vermelhos claros apresentaram decréscimos de firmeza acentuados em pós-colheita. O mesmo não aconteceu com os medronhos verdes que no último dia de medições se encontravam tão consistentes como no primeiro.

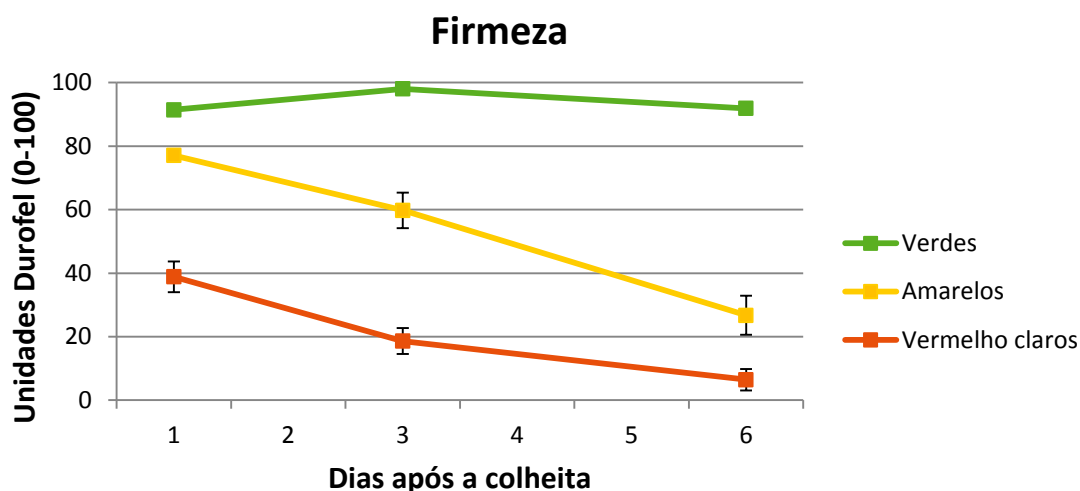


Figura 28 - Evolução da firmeza nos medronhos da experiência II.

Nas Figura 29 Figura 30 mostram-se as evoluções dos parâmetros da cor (tonalidade e luminosidade) dos medronhos analisados na experiência II.

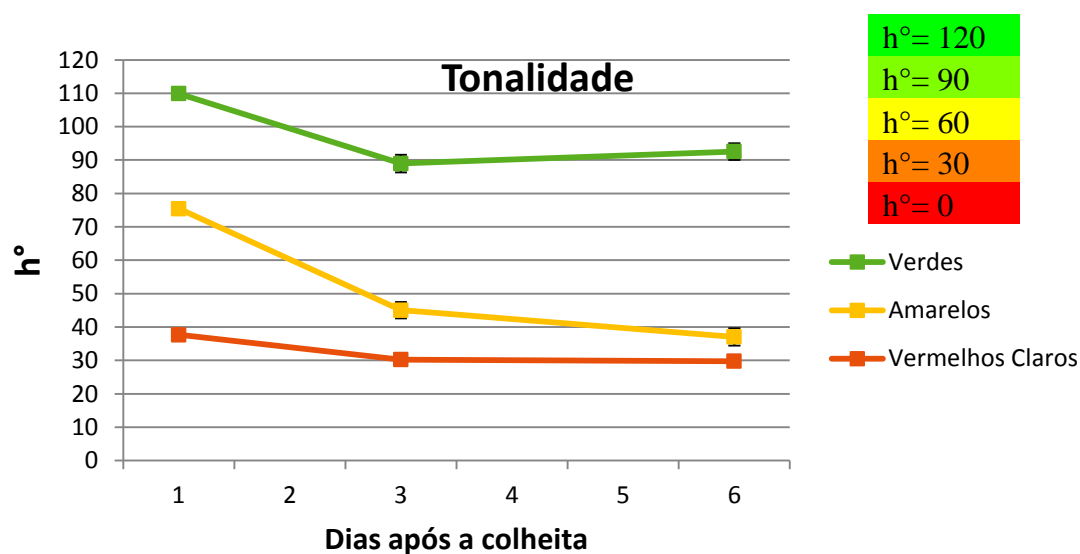


Figura 29 - Evolução da tonalidade nos medronhos da experiência II.

Em relação à tonalidade dos frutos, verifica-se um decréscimo deste parâmetro em todos os estados de maturação analisados. No caso dos medronhos verdes indica a passagem de um verde “mais puro” a um verde ligeiramente amarelado.

Nos medronhos amarelos e vermelhos claros a diminuição do valor da tonalidade indica o avermelhar dos frutos, com a passagem dos tons amarelos dos frutos a tons laranjas e vermelhos, tal como sucedido no trabalho de Santos *et al.* (2013) e na experiência I do presente trabalho.

A evolução do aspeto dos medronhos utilizados na experiência II encontra-se registada em fotografia nos Anexos 5, 6 e 7.

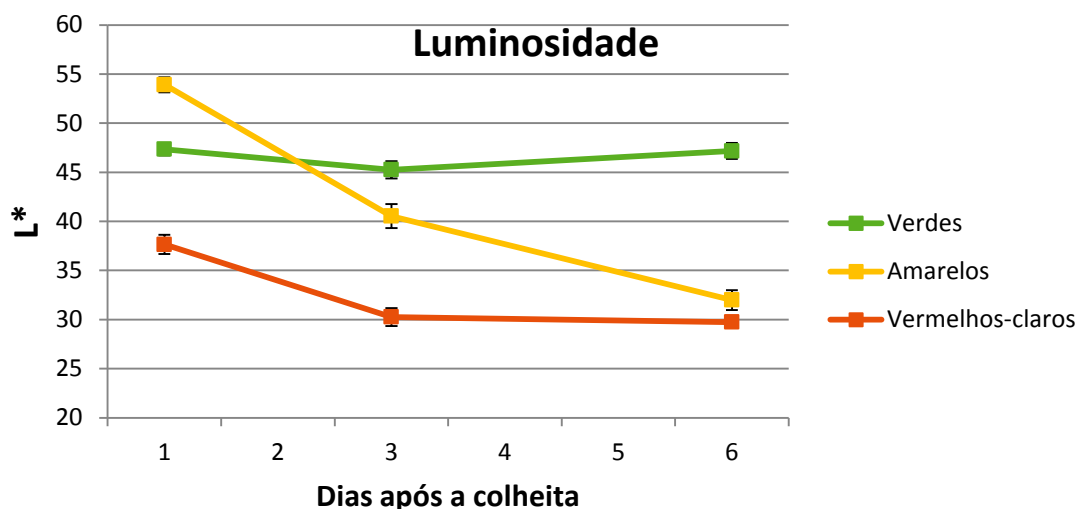


Figura 30 - Evolução da luminosidade nos medronhos da experiência II.

A luminosidade das amostras mostrou-se decrescente na pós-colheita dos medronhos amarelos e vermelhos claros, mantendo-se sem grandes alterações no caso dos medronhos verdes. As alterações ocorridas indicam o escurecimento da superfície dos medronhos em pós-colheita, tal como sucedido na experiência I do presente trabalho e nos trabalhos de Santos *et al.* (2013) e Guerreiro *et al.* (2013).

Após a realização da experiência II continuou a observar-se a evolução da cor dos medronhos verdes que não foram utilizados. Os medronhos verdes continuaram a mudar de coloração, seguindo a tendência verificada nos outros estados de maturação. Esta evolução ficou registada nas fotografias do Anexo 8.

4.2.1.2.2 Caracterização química

O Quadro 21 foi elaborado com o objetivo de comparar as características químicas dos medronhos da experiência II no primeiro dia da experiência II.

Quadro 21 - Características químicas dos medronhos da experiência II no 1º dia (06/11/2013). Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).

FRUTOS	TSS (%)	pH	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100 mL)	Fenóis (mg/100 mL)
Verdes	23,6	3,57	9,4	279±37,21	610±2,30
Amarelos	23,2	3,25	11,5	494±18,60	327±8,70
Vermelhos claros	25	3,23±0,03	10,9±0,09	419±0,0	410±26,84

O teor de sólidos solúveis dos medronhos na experiência II mostrou-se dentro dos valores referidos na literatura previamente citada para medronhos maduros. Santos *et al.* (2013) obtiveram um valor de aproximadamente 15 °Brix em medronhos imaturos que passou para valores próximos de 20 °Brix após 5 dias à temperatura ambiente. Na presente experiência, os medronhos verdes e amarelos apresentavam já um TSS equiparável aos teores medronhos maduros do trabalho de Santos *et al.* (2013), de Guerreiro *et al.* (2013) e da experiência I do presente trabalho.

Os valores de pH encontrados encontram-se dentro dos valores referidos na literatura. Isbilir *et al.* (2012) analisaram o pH em frutos verdes, amarelos e vermelhos, não encontrando diferenças significativas entre os diferentes estados de maturação, o pH nesse estudo rondou 4,72. Na presente experiência o pH mostrou-se inferior aos valores obtidos por Isbilir *et al.* (2012) em todos os estados de maturação. O pH dos medronhos amarelos e vermelhos claros foi bastante próximo entre si, no entanto os medronhos verdes apresentaram um pH superior aos restantes.

Os valores da acidez obtidos no primeiro dia da experiência II encontram-se dentro dos limiares encontrados nos trabalhos de Sulusoglu *et al.* (2011) e Celikel *et al.* (2008).

Isbilir *et al.* (2012) encontraram maior acidez em medronhos amarelos, do que em verdes e vermelhos, que tinham praticamente a mesma acidez. Na presente experiência, tal como no trabalho supracitado, também se obteve uma acidez superior nos frutos amarelos.

O teor de vitamina C dos medronhos verdes encontrava-se, no primeiro dia das experiências, dentro dos valores considerados em trabalhos anteriores (Celikel *et al.*, 2008 e Serçe *et al.*, 2010) que estudavam, no entanto, medronhos maduros.

Os teores de vitamina C dos medronhos amarelos e vermelhos claros da experiência II superaram largamente os valores mais altos encontrados na bibliografia relativa a este fruto, confirmando que os medronhos podem ser frutos muito ricos em vitamina C. No trabalho levado a cabo por Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) os teores de ácido ascórbico foram mais baixos nos medronhos maduros do que em medronhos imaturos, no entanto, tal não se verificou nesta experiência. Segundo Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) os teores de vitamina C são influenciados pela exposição à luz, temperatura e outros fatores ambientais.

Tal como na experiência I, o teor de fenóis totais nos frutos amarelos e vermelhos claros ocorreu em valores próximos aos encontrados no trabalho de Serçe *et al.* (2010). O valor mais alto ocorreu nos medronhos verdes, que apresentavam um teor de fenóis totais semelhante ao valor encontrado em mirtilos no trabalho de Marinova *et al.* (2005).

Tal como na presente experiência, os resultados obtidos por Alarcão-E-Silva *et al.* (2001) indicam que o teor de fenóis totais tende a decrescer ligeiramente durante o processo de amadurecimento dos medronhos. Também no trabalho de Isbilir *et al.* (2012) se encontraram os menores teores de fenóis nos medronhos amarelos, enquanto os medronhos vermelhos e verdes apresentavam teores mais elevados e semelhantes entre si.

No trabalho de Ruiz-Rodríguez *et al.* (2011) os teores de vitamina C ocorreram inversamente relacionados com o teor de fenóis totais, o que também pareceu ocorrer na experiência II.

No Quadro 22 constam os valores obtidos nas análises químicas efetuadas na pós-colheita dos medronhos da experiência II.

Quadro 22 - Características químicas dos medronhos da experiência II nos dias 6, 8 e 11 de Novembro de 2013. Médias e desvio padrão do teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).

DATA	TSS (%)	pH	Acidez (g/L)	Vitamina C (mg/100 mL)	Fenóis (mg/100 mL)
VERDES					
6 Nov.	23,6	3,57	9,4	279±37,2	610±2,3
8 Nov.	22,9	3,54±0,02	9,2±0,0	411±20,9	684±14,3
11 Nov.	23,6	2,89±0,01	14,7±0,2	471±0,0	594±7,3
AMARELOS					
6 Nov.	23,2	3,25	11,5	494±18,6	327±8,7
8 Nov.	24,9	3,32±0,01	11,6±0,09	483±83,7	412±5,7
11 Nov.	25,8	3,33±0,04	11,9±0,3	447±20,9	375±30,6
VERMELHOS CLAROS					
6 Nov.	25	3,23±0,03	10,9±0,09	419±0,0	410±26,8
8 Nov.	23,4	3,32±0,01	11,2±0,09	483±20,9	373±54,0
11 Nov.	27,8	3,36±0,02	9,6±0,09	495±55,4	393±37,5

O valor de TSS mostrou-se crescente nos medronhos amarelos e vermelhos claros, revelando poucas alterações nos medronhos verdes. A mesma tendência de evolução verificada nos medronhos amarelos e vermelhos claros foi encontrada nos medronhos estudados por Santos *et al.* (2013) e Guerreiro *et al.* (2013).

O valor de pH dos frutos verdes mostrou-se decrescente ao longo da evolução em pós-colheita, atingindo um valor mais baixo que os valores encontrados em medronhos maduros citados na bibliografia consultada. Tal como na experiência I do presente trabalho, o pH dos frutos amarelos e vermelhos claros mostrou uma tendência crescente ao longo da pós-colheita.

Nos medronhos verdes, a acidez da polpa mostrou-se crescente acompanhando a descida do pH. Nos medronhos amarelos a acidez parece aumentar ligeiramente, enquanto nos medronhos vermelhos claros tal como na experiência I, a acidez

apresentou uma tendência decrescente, o que provavelmente se relaciona com o fenômeno da respiração dos ácidos no período pós-colheita.

Os teores vitamina C mostraram-se crescentes nos medronhos verdes alcançando em pós-colheita o valor obtido nos restantes estados de maturação. Nos frutos amarelos o teor de vitamina C apresentou uma tendência decrescente, tal como na experiência I. Os medronhos vermelhos claros apresentaram uma tendência crescente dos teores de vitamina C. Uma vez que a evolução dos teores de vitamina C à colheita e no período pós-colheita seguem tendências distintas das encontradas na experiência I, não é possível comparar a evolução deste composto nas duas experiências.

Os teores de fenóis totais dos frutos verdes e vermelhos mantiveram-se mais ou menos constantes durante o tempo de em que decorreu a análise pós-colheita. O teor de fenóis totais apresentou uma tendência crescente na pós-colheita dos medronhos amarelos, tal como aconteceu na experiência I.

4.2.2 Determinação do etileno produzido e da taxa respiratória dos medronhos

Nas Figuras Figura 31 e Figura 32 apresentam-se os resultados obtidos analisando a produção de etileno e CO₂ nos medronhos das experiências I e II, respectivamente.

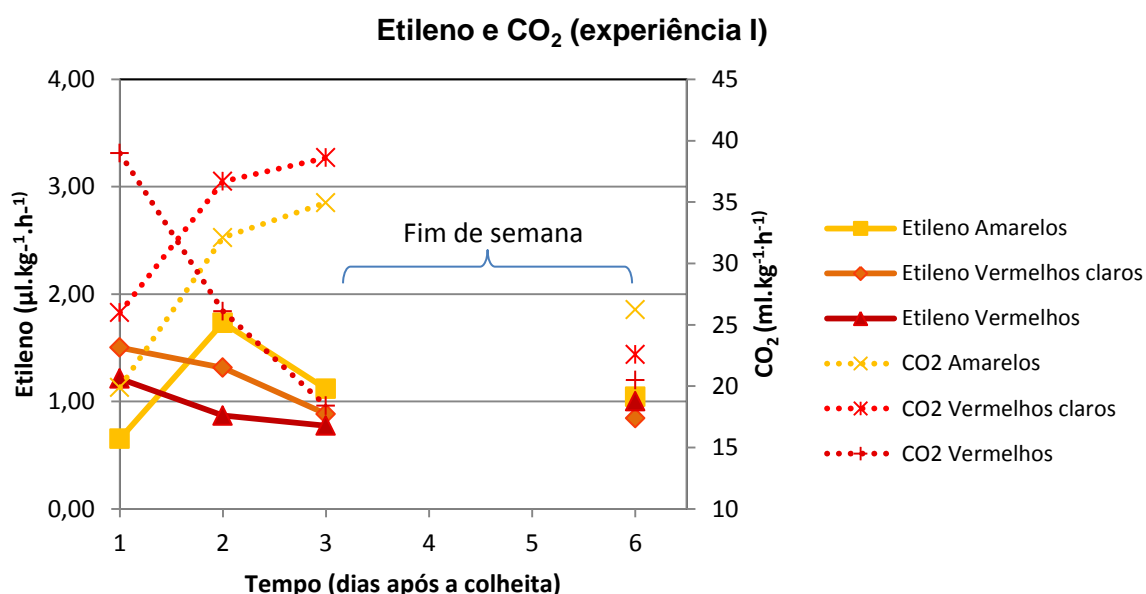


Figura 31 - Produção de etileno e CO₂ pelos medronhos da experiência I (dia 1 = 48 horas após a colheita).

Nas análises da experiência I, verificámos que a produção de etileno e a respiração dos medronhos vermelhos já se encontravam em acentuado declínio, provavelmente devido ao avançado estado de maturação dos frutos.

Os medronhos vermelhos claros apresentaram um decréscimo do etileno produzido e um aumento da respiração enquanto nos medronhos amarelos se registou um pequeno pico, assim como um aumento da respiração.

A impossibilidade de se continuarem as medições no fim-de-semana impediu a deteção e quantificação de eventuais picos de etileno e/ou respiração nesse período, no entanto os valores de etileno obtidos encontram-se acima dos valores de etileno típicos de frutos não-climatéricos descritos por Paliyath & Murr (2008).

No âmbito da experiência II, da mesma forma que na experiência anterior, o fim-de-semana poderá ter impossibilitado a monitorização da ocorrência de picos de etileno, nomeadamente a nível dos medronhos verdes e amarelos. Nesta experiência, a taxa de produção de etileno pelos medronhos verdes (após o fim-de-semana), amarelos e vermelhos claros inclui-se no intervalo de valores que determina uma taxa de produção de etileno “moderada” (Kader, 2002), encontrando-se ao nível de frutos como bananas, figos, mangas, tomates e alguns melões, que são frutos climatéricos.

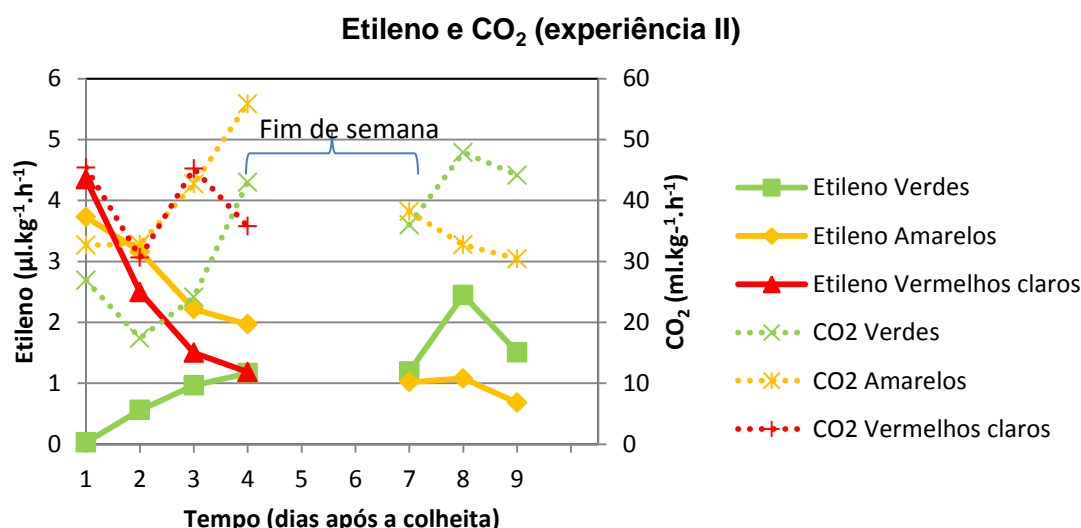


Figura 32 - Produção de etileno e CO₂ pelos medronhos da experiência II (dia 1 = 12 horas após a colheita).

Por outro lado, o facto dos medronhos imaturos amadurecerem em pós-colheita (mudança de cor, aumento do TSS, e perda de firmeza) é típico dos frutos climactéricos. Similarmente ao presente trabalho, este comportamento também foi verificado no trabalho de Santos *et al.* (2013), que concluem que os medronhos em pós-colheita se comportam como frutos climatéricos, embora se necessitasse de dados relativos à produção de etileno e CO₂ para o poder afirmar com toda a propriedade. Acresce ainda que os frutos verdes são sensíveis ao etileno (com a adição de etileno exógeno, a produção de etileno aumenta 2-2,5 vezes (Sanchez, 2014, comunicação pessoal).

Este trabalho procurou complementar a informação avançada pelos autores supracitados. Através dos dados obtidos, podemos afirmar que o comportamento do medronho em pós-colheita se encontra mais perto de um fruto climatérico do que não climatérico.

5 Conclusão e Perspetivas

A elaboração deste trabalho visou aumentar o conhecimento acerca da espécie *A. unedo* L. (medronheiro) através da caracterização morfológica de clones e da avaliação da fisiologia pós-colheita dos frutos.

Na caracterização morfológica de clones ocorreram diferenças significativas na altura da copa e na área seccional do tronco, assim como das características físicas das folhas adultas.

Em média, o clone C1 possuía a copa mais alta e o clone AL3 a copa mais baixa. Ao contrário da altura da copa, o clone AL3 apresentava um tronco em média mais grosso que os restantes, enquanto a modalidade testemunha dos tratamentos micorrízicos (C1T) tinha o tronco mais fino.

As folhas dos diferentes clones apresentaram diferenças estatisticamente relevantes ao nível do comprimento, largura, relação comprimento/largura e espessura do limbo, assim como no comprimento do pecíolo. Estas características podem ajudar na diferenciação dos clones no campo. Parece existir uma relação direta entre a dimensão e a espessura do limbo das folhas dos clones. Esta relação pode ser indicativa de diferentes estratégias de poupança de água ao nível da folha por parte dos diferentes génotipos. As folhas do clone AL1 apresentam uma espessura média consideravelmente superior aos valores encontrados na bibliografia.

Verificou-se uma maior percentagem de árvores com frutos nas plantas resultantes de micropropagação que nas árvores provenientes de propagação seminal, o que sugere uma entrada em produção mais precoce das árvores micropropagadas.

Os clones também apresentam diferentes percentagens de árvores com frutos entre si. Os clones AL1 e C1 parecem ser os mais precoces nas condições do ensaio.

Os diferentes tratamentos micorrízicos sugerem que a micorrização em viveiro pode contribuir para a precocidade, uma vez que as árvores micorrizadas apresentam maior percentagem de árvores em frutificação que a testemunha.

O número médio de frutos por infrutescência e o número médio de rebentos por infrutescência variou significativamente entre os clones e modalidades de micorrização presentes no ensaio, não se verificando contudo uma relação apreciável entre o número de frutos e rebentos de cada infrutescência estudada.

Os medronheiros alvo de tratamentos micorrízicos apresentam um maior número médio de frutos por infrutescência e de rebentos do que os medronheiros testemunha, o que sugere que a micorrização em viveiro pode tornar as plantas mais vigorosas e produtivas.

Os rebentos de primavera dos diferentes genótipos apresentam diferenças ao nível da cor. Os rebentos de AL1 e C1 são predominantemente verdes, enquanto AL2 e AL3 apresentam coloração acastanhada. Estas diferenças poderão auxiliar a identificação dos clones no campo e podem ser importantes na sua utilização como planta ornamental.

Os medronheiros do ensaio apresentaram uma tendência para frutificar nos quadrantes oeste e sul da copa, em detrimento dos lados norte e este. Estas diferenças podem dever-se às condições de luminosidade, temperatura e/ou vento experimentadas pelos medronheiros do ensaio. Em futuros estudos, seria interessante dispor de uma estação meteorológica próxima para tentar compreender melhor esta observação.

Alguns clones presentes no ensaio foram selecionados tendo em conta as características dos frutos produzidos. No presente estudo apenas foi possível analisar os frutos maduros de AL1. Os valores da análise química foram diferentes dos valores obtidos em 2006, revelando que a composição química dos medronhos varia com o ano em questão. Os valores obtidos na análise física confirmam que os frutos de AL1 são mais consistentes que os outros medronhos analisados neste estudo, uma vez que no mesmo estado de maturação a sua firmeza média foi superior.

Das análises físico-químicas efetuadas no decorrer das experiências I e II, podemos concluir que medronhos de coloração similar podem apresentar características físicas e químicas distintas. No Quadro 23 são expostos os valores máximos e mínimos obtidos nos medronhos com diferentes colorações no primeiro dia de cada experiência (mais próximo da colheita).

As maiores diferenças físicas entre os medronhos no mesmo estado maturação verificam-se no peso, com as maiores discrepâncias a ocorrerem nos medronhos amarelos, vermelhos claros e vermelhos, e na dureza, onde medronhos classificados como amarelos e vermelhos claros apresentaram elevada variabilidade.

Quadro 23 - Características físicas e químicas dos medronhos no 1º dia das experiências I e II. Valores mínimos e máximos do peso (g), firmeza (Un. Durofel), teor de sólidos solúveis (TSS), do pH, da acidez titulável (g de ácido málico/L), vitamina C (mg/100 mL) e fenóis totais (mg ácido gálico/100 mL).

Estado de maturação	verde	amarelo	vermelho claro	vermelho
peso (g)	1,9 - 4,88	2,98 - 11,89	2,3 - 10,41	3,39 - 9,45
Firmeza (un. Durofel)	80 - 98,3	17,2 - 91,4	0 - 85,1	0 - 31,5
TSS (%)	23,6	22,9 - 23,2	21,7 - 25	21,8
pH	3,6	2,9 - 3,3	3,2 - 3,3	3,4
Acidez (g ác. málico/L)	9,4	10,2 - 11,5	8,7 - 11,5	8,4
Vitamina C (mg/100 mL)	258 - 322	203 - 515	203 - 419	232 - 261
Fenóis (mg/100 mL)	608 - 613	305 - 335	242 - 431	221 - 267

Ao nível das análises químicas as maiores discrepâncias ocorreram nos teores de vitamina C e fenóis totais que oscilaram do simples para o dobro no caso dos medronhos amarelos e vermelhos claros, provavelmente por serem os estados de maturação em que se inseriam simultaneamente medronhos de duas proveniências distintas. Estas diferenças poderão ser usadas na seleção de genótipos cujos frutos sejam mais ricos em vitamina C ou fenóis, uma vez que são compostos promotores da saúde humana.

Quanto à evolução dos parâmetros físicos em pós-colheita, verificou-se que todos os estados de maturação se tornam vermelho-alaranjados, escurecendo no processo, o que se traduziu no decréscimo dos valores da tonalidade e luminosidade das amostras ao longo do período considerado. Foi registado amolecimento em todos os estados de maturação, com exceção dos medronhos verdes.

No caso da evolução dos parâmetros químicos pós colheita, verificou-se que o aumento do TSS e do pH da polpa foi uma constante em todos os estados de maturação, com exceção dos medronhos verdes.

Excluindo o caso dos medronhos verdes, a acidez titulável mostrou, em geral, uma tendência decrescente ao longo da maturação pós-colheita.

Nos teores de vitamina C e fenóis totais não foi possível distinguir uma tendência geral de evolução em pós colheita. O facto de os frutos terem sido colhidos em diferentes indivíduos, que se encontravam em condições distintas (mais relevantes no caso da experiência II, em que os medronhos provêm de um povoamento natural), pode ter dado origem a variações nos teores destes compostos de fruto para fruto, que impediram a observação de tendências. Em trabalhos posteriores, em que se pretenda averiguar a evolução dos teores destes compostos, dever-se-ão seleccionar frutos tendo em conta o genótipo dos medronheiros e as condições edafo-climáticas em que se encontram.

Neste trabalho procurou averiguar-se se os medronhos são ou não frutos climactéricos, chegando-se às conclusões que, provavelmente, os medronhos não têm um comportamento de climactéricos "típico", mas estão mais perto do comportamento climactérico que do não-climactérico, uma vez que:

- Os medronhos imaturos amadurecem em pós colheita, apresentando mudança de cor (de verde ou amarelo a vermelho), amolecimento, aumento de TSS e diminuição da acidez.

- Em 2 ensaios temos picos de etileno com os correspondentes picos de CO₂;

- A classificação dos frutos em função taxa de produção de etileno é de Baixa a Moderada (entre 0,1 e 10 µl.kg⁻¹.h⁻¹).

Há que ter em conta que os estudos das características agronómicas devem ser efectuados durante um período mínimo de três anos, devido às variações interanuais (climáticas, idade das plantas, produtividade, entre outros).

Por outro lado, o estudo da evolução da maturação do medronho, em particular a taxa respiratória e produção de etileno deverá ser repetido, monitorizando a evolução destes compostos diariamente e durante um período de oito dias sem interrupções.

6 Bibliografia

- Akay, S., Alpak, I., Celiktas, O. (2011) Effects of process parameters on supercritical CO₂ extraction of total phenols from strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: An optimization study. *Journal of Separation Science* 34: 1925–1931
- Alarcão-E-Silva, M.L.C.M.M., Leitão, A.E.B., Azinheira, H.G., Leitão, M.C.A. (2001). The *Arbutus* berry: Studies on its color and chemical characteristics at two mature stages, *Journal of Food Composition and Analysis* 14: 27–35
- Alves, A.M., Pereira, J.S., Correia, A.V. (2012). *Silvicultura – A Gestão dos Ecossistemas Florestais*. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa
- Ayaz, F.A., Kucukislamoglu, M., Reunanen, M. (2000) Sugar, non-volatile and phenolic acids composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L. var *ellipsoidea*) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 13:171–177
- Bacelar, E.A., Correia, C.M., Moutinho-Pereira, J.M., Gonçalves, B.C., Lopes, J.I., Torres-Pereira, J.M.G. (2003). Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions *Tree Physiology* 24: 233–239
- Barros, L., Carvalho, A.M., Morais, J.S., Ferreira, I.C.F.R. (2010) Strawberry-tree, blackthorn and rose fruits: detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chemistry* 120: 247–254
- Battipaglia, G., De Mico, V., Brand, W.A., Linke, P., Aronne, G., Saurer, M., Cherubini, P. (2010) Variations of vessel diameter and $\delta^{13}\text{C}$ in false rings of *Arbutus unedo* L. reflect different environmental conditions. *New Phytologist* 188:1099–1112
- Bombelli, A. & Gratani, L. (2003) Interspecific differences of leaf gas exchange and water relations of three evergreen Mediterranean shrub species. *Photosynthetica* 41: 619-625
- Caldeira, M.C. (2012) Caixa XXVII – Os matos na região mediterrânica in: Alves, A.M., Pereira, J.S., Correia, A.V. (2012). *Silvicultura – A Gestão dos Ecossistemas Florestais*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa. pp. 530-531.
- Canadell, J. & Lopez-Soria, L. (1998) Lignotuber reserves support regrowth following clipping of two Mediterranean shrubs. *Functional Ecology* 12: 31–38.
- Castaldi, S., Carfora, A., Fiorentino, A., Natale, A., Messere, A., Miglietta, F., Cotrufo, M.F. (2009) Inhibition of net nitrification activity in a Mediterranean woodland: possible role of chemicals produced by *Arbutus unedo*. *Plant Soil* 315: 273–283
- Castell, C., Terradas, J., Tenhunen, J. (1994) Water relations, gas exchange, and growth of resprouts and mature plant shoots of *Arbutus unedo* L. and *Quercus ilex* L. *Oecologia* 98: 201-211.

- Cavaco, T. (2007) Caracterização química e bioquímica dos frutos de *Arbutus unedo* L. e de *Rubus fruticosus* Agg. - Contribuição para a sua valorização. Dissertação de mestrado. Faculdade de Engenharia de Recursos Naturais - Universidade do Algarve. Faro.
- Cavaco, T., Longuinho, C., Quintas, C., Carvalho, I.S. (2007) Chemical and Microbial Changes during the Natural Fermentation of *Arbutus Unedo* Fruits. *Journal of Food Biochemistry* 31: 715–725
- Celikel, G., Demirsoy, L., Demirsoy, H. (2008) The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) selection in Turkey. *Scientia Horticulturae* 118: 115–119
- Correia, A. & Oliveira, Â. (1999) Principais Espécies Florestais com Interesse para Portugal – Zonas de Influência Mediterrânica. Direcção Geral das Florestas. Lisboa. 67-69.
- Correia, C. & Varela, J. (1996) Os sistemas da alfarrobeira e do medronheiro no Algarve. *Revista Florestal* 4: 30-35.
- Delgado-Pelayo, R. Hornero-Méndez, D. (2010) Identification and quantification of carotenoids from strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. Instituto de la Grasa/CSIC, Espanha.
- Filella, I. & Peñuelas, J. (2003) Partitioning of water and nitrogen in co-occurring Mediterranean woody shrub species of different evolutionary history. *Oecologia* 137: 51–61
- Fortalezas, S., Tavares, L., Pimpão, R., Tyagi, M., Alves, P.M., McDougall, G., Stewart, D., Ferreira, R.B., Santos, C.N. (2010) Antioxidant Properties and Neuroprotective Capacity of Strawberry Tree Fruit (*Arbutus unedo*). *Nutrients* 2: 214-229
- Gama, J. (2012) Potencialidades do medronho na Região Centro. Jornadas do Medronho. Programa e Resumos. Escola Superior Agrária de Coimbra. Coimbra.
- Ganhão, R., Morcuende, D. e Estévez, M. (2010) Protein oxidation in emulsified cooked burger patties with added fruit extracts: influence on colour and texture deterioration during chill storage. *Meat Science* 85: 402-409
- García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J.C. (2004) Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84: 13–18
- Godinho, B. (2009) Avaliação da qualidade ambiental da envolvente das Minas da Panasqueira. Vertente solo-água-*Arbutus unedo*. Um caso de estudo com orientação ambiental e social. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente – Tecnologias Ambientais. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa.
- Gomes, F., Canhoto, J.M. (2009) Micropropagation of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) from Adult Plants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant* 45: 72-82
- Gomes, F., Figueiredo, P., Santos, A.R., Canhoto, J. (2012) Propagação de plantas selecionadas de medronheiro. Actas das Jornadas do Medronho. Coimbra.

- Gomes, F., Simões, M., Lopes M.L., Canhoto, J.M. (2010) Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree) *New Biotechnology* 27(6): 882-92.
- Gomes, M.F.F.N. (2011) Strategies for the improvement of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree): in vitro propagation, mycorrhization and diversity analysis. Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Biologia. Faculdade de Ciências e Tecnologias de Coimbra. Coimbra
- Gratani, L. & Ghia, E. (2002a) Adaptive strategy at the leaf level of *Arbutus unedo* L. to cope with Mediterranean climate. *Flora* 197: 275–284
- Gratani, L. & Ghia, E. (2002b) Changes in morphological and physiological traits during leaf expansion of *Arbutus unedo*. *Environmental and Experimental Botany* 48: 51–60
- Guerreiro, A.C., Gago, C.M.L., Miguel, M.G.C., Antunes, M.D.C. (2013) The effect of temperature and film covers on the storage ability of *Arbutus unedo* L. fresh fruit. *Scientia Horticulturae* 159: 96–102
- Hileman, L.C., Vasey, M.C., Parker, V.T. (2001) Phylogeny and Biogeography of the Arbutioideae (Ericaceae): Implications for the Madrean-Tethyan Hypothesis. *Systematic Botany* 26: 131–143
- ICNF - Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, I.P. (2013) *Espécies Arbóreas Indígenas Em Portugal Continental – Guia de Utilização*. Departamento de Gestão e Produção Florestal. Ministério da Agricultura, Mar, Ambiente e Ordenamento do Território.
- INIAP – Laboratório Químico Agrícola Rebelo da Silva (2006) *Manual de Fertilização das Culturas*. Editorial do Ministério da Educação. Lisboa
- Isbilir, S.S., Orak, H.H., Yagar, H., Ekinci, N. (2012) Determination of Antioxidant Activities of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Flowers and Fruits at Different Ripening Stages. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 11: 223-237
- Kader, A. (1992) Postharvest Technology of Horticultural Crops. Universidade da Califórnia, Davis, EUA.
- Kader, A.A. (2002) Postharvest biology and technology: an overview. In: Kader, A.A. (Ed.). Post harvest technology of horticultural crops. Third edition. University of California, Agriculture and Natural Resources, Publication 3311, Oakland: 39-47.
- Kummerow, J. (1989) Structural aspects of shrubs in Mediterranean-type plant communities. In: Jornadas sobre las bases ecológicas para la gestion en ecosistemas terrestres: 5-11
- Lagarto, V., Gomes, F., Franco, J., Oliveira, F. (2012) Estudo de mercado sobre as potencialidades do medronho na região centro. *Agrotec - revista técnico científica agrícola – Pequenos Frutos* 1: 37
- Lagarto, V., Gomes, F., Franco, J., Oliveira, F. (2013) Estudo de mercado sobre as potencialidades do medronho na região centro. *Agrotec – revista técnica científica agrícola* 6: 78-81

- Marinova, D., Ribarova, F., Atanassova, M. (2005) Total Phenolics and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40 (3): 255-260
- McGuire, R.G. (1992) Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience* 27: 1254-1255
- Mendes, L., Freitas, V., Baptista, P., Carvalho, M. (2011) Comparative antihemolytic and radical scavenging activities of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) leaf and fruit. *Food and Chemical Toxicology* 49: 2285–2291
- Mesléard, F. & Lepart, J. (1989) Continuous basal sprouting from a lignotuber: *Arbutus unedo* L. and *Erica arborea* L., as woody Mediterranean examples. *Oecologia* 80:127-131
- Molina, M., Pardo-De-Santayana, M., Aceituno, L., Morales, R. e Tradío, J. (2011) Fruit production of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) in two Spanish forests. *Forestry* 84: 419-429
- Neto, C. (2007) – Os medronhais In: *Do castanheiro ao teixo: as outras espécies florestais*. Joaquim Sande (ed.) Lisboa: Público, Fundação Luso-Americana para o Desenvolvimento.
- Noronha, J. (2001) Metabolitos secundários do fruto de *Arbutus unedo* L. (Medronho). Dissertação para obtenção do grau de Doutor em Química. Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia. Lisboa
- Ogaya, R., Peñuelas, J., Martínez-Vilalta, J., Mangirón, M. (2003) Effect of drought on diameter increment of *Quercus ilex*, *Phillyrea latifolia*, and *Arbutus unedo* in a holm oak forest of NE Spain. *Forest Ecology and Management* 180: 175-184
- Oliveira I., Baptista P., Malheiro, R., Casal, S., Bento, A., Pereira J.A., (2011) Influence of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit ripening stage on chemical composition and antioxidant activity. *Food Research International* 44: 1401–1407
- Oliveira, I. (2010) Caracterização fitoquímica de folhas e frutos de *Arbutus unedo* L. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Politécnico de Bragança. Escola Superior Agrária. Bragança
- Oliveira, I., Baptista, P., Albino, B., Pereira, J.A. (2011) *Arbutus unedo* L. and its benefits on human health (Review). *Journal of Food and Nutrition Research* 50: 73–85
- Orak, H., Aktas, T., Yagar, H., Isbilir, S., Ekinci, N., Sahin, F. (2013) Antioxidant activity, some nutritional and colour properties of vacuum dried strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruit. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment.* 10: 327-338
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., Simons, A. (2009) Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0 (<http://www.worldagroforestry.org/af/treedb>)
- Özcan, M. & Haciseferoğullari, H. (2007) The Strawberry (*Arbutus unedo* L.) fruits: Chemical composition, physical properties and mineral contents. *Journal of Food Engineering* 78: 1022–1028

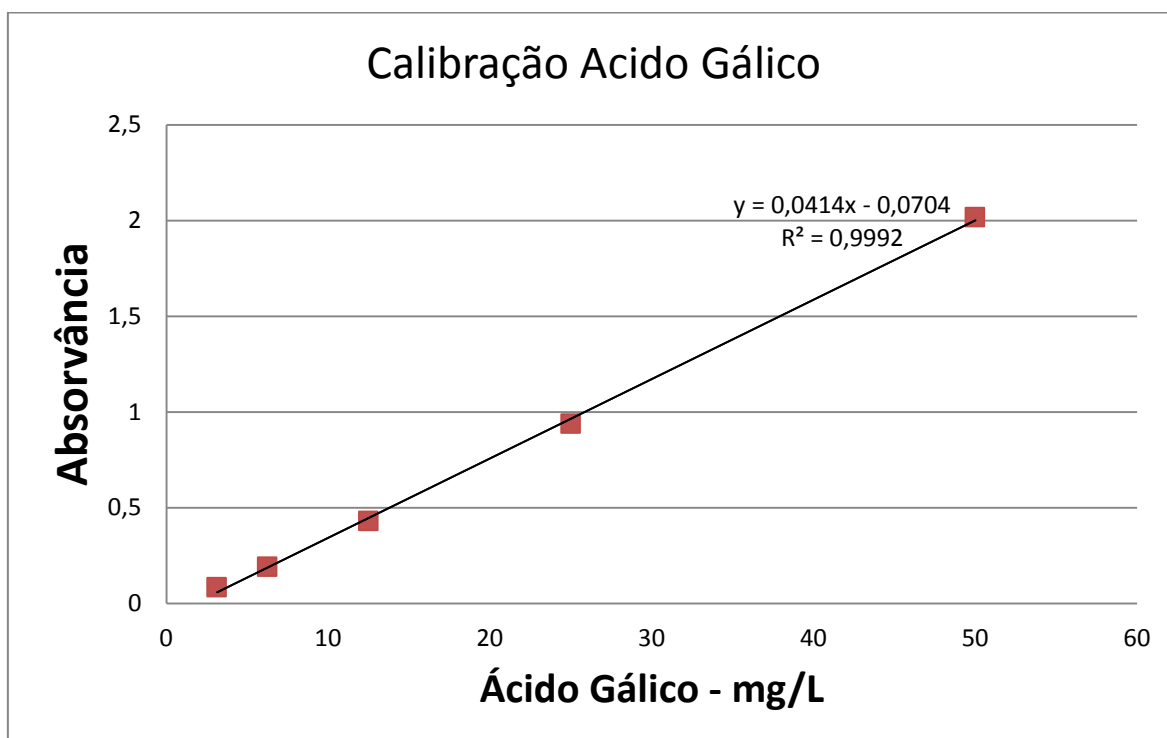
- Paliyath, G. & Murr, D.P. (2008) *Biochemistry of Fruits*. In: Paliyath, G., Murr, D.P., Handa, A. K., Lurie, S. (2008) *Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetables and Flowers*. 1ª Edição. New Delhi, India. Wiley-Blackwell. Capítulo 3.
- Pallauf, K., Rivas-Gonzalo, J.C., del Castillo, M.D., Cano M.P., Pascual-Teresa, S (2008) Characterization of the antioxidant composition of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) fruits. *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 273–281.
- Pimpão, R.C., Dew, T., Oliveira, P.B., Williamson, G., Ferreira, R.B., Santos, C.N. (2013) Analysis of Phenolic Compounds in Portuguese Wild and Commercial Berries after Multienzyme Hydrolysis. *Journal of Agriculture of Food Chemistry* 61: 4053–4062
- Pinna, C. (2011) Distribuzione e Variabilità del genere *Arbutus* L.: analisi sistematica e morfologia integrata di *Arbutus unedo* L. in Sardegna. Tese para obtenção do grau de Doutor em Monitoração e Controlo dos Ecossistemas Forestais em Ambiente Mediterrâneo. Università degli Studi di Sassari. Sassari
- Pisoschi, A.M., Danet, A.F., Kalinowski, S. (2008) Ascorbic Acid Determination in Commercial Fruit Juice Samples by Cyclic Voltammetry. *Journal of Automated Methods and Management in Chemistry* : 8 pp
- Prada, M. & Arizpe, D. (2008) *Guia de Propagação de Árvores e Arbustos Ribeirinhos –Um Contributo para o Restauro de Rios na Região Mediterrânica*. ISA Press: 27-29
- Raschke, K. & Resemann (1989) The midday depression of CO₂ assimilation in leaves of *Arbutus unedo* L.: diurnal changes in photosynthetic capacity related to changes in temperature and humidity. *Planta* 168: 546-558
- Rau, P. (2008) Método biológico – Cultura do Medronheiro. *Jardins* 68: 61-62
- Rodrigues, O.S. (2010) Caracterização Morfológica, Molecular e Química de *Arbutus unedo* L. com vista à seleção de genótipos de superior qualidade. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior Agrária. Bragança
- Ruiz-Rodríguez, B-M., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Sánchez-Mata, M-C., Cámara, M., Díez-Marqués, C., Pardo-de-Santayana, M., Molina, M., Tardío, J. (2011) Valorization of wild strawberry-tree fruits (*Arbutus unedo* L.) through nutritional assessment and natural production data. *Food Research International* 44: 1244 –1253
- Santos, C., Franco, J., Botelho, G. (2013) Contributo para a avaliação da maturação do medronho na sua pós-colheita. *Agrotec* 9: 28-31.
- Santos-Buelga, C. & Scalbert, A. (2000) Proanthocyanidins and tannin-like compounds– nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of Science Food Agriculture* 80:1094 - 1117

- Şeker, M., Yücel, Z., Nurdan, E. (2004) Investigation of Morphological and Pomological Characteristics of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.) Population in the Natural Flora of Çanakkale District. *Tarım Bilimleri Dergisi* 10: 422-427
- Serçe, S., Özgen, M., Torun, A., Ercişli, S. (2010) Chemical composition, antioxidant activities and total phenolic content of *Arbutus andrachne* L. (Fam. Ericaceae) (the Greek strawberry tree) fruits from Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 619–623
- Sharma, M., Sitbon, C., Subramanian, J., Paliyath, G. – Changes in Nutritional Quality of Fruits and Vegetables During Storage. In: Paliyath, G., Murr, D.P., Handa, A.K., Lurie, S. (2008) *Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetables and Flowers*. 1ª Edição. New Delhi, India. Wiley-Blackwell. pp. 443-466.
- Silva, J.S. & Rego, F.C. (2004) Root to shoot relationships in Mediterranean woody plants from Central Portugal. *Biologia*, Bratislava, 59/Suppl.13
- Sousa, M.B., Curado, T., Vasconcelos, F.N., Trigo, M.J. (2007) *Mirtilo – Qualidade pós-colheita*. Folhas de Divulgação Agro 556 nº 8
- Sulusoglu, M., Cavusoglu, A. e Erkal, S. (2011) *Arbutus unedo* L. (Strawberry tree) selection in Turkey Samanlı mountain locations. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 3545-3551
- Tapum, J.A.M. (1980) *Breves notas sobre a cultura do medronheiro na serra algarvia – passado, presente e futuro*. Instituto Geográfico e Cadastral. Direcção dos Serviços de Cadastro, Divisão dos Serviços de Avaliação e Conservação Cadastral
- Tavares, L., Fortalezas, S., Carrilho, C., McDougall, G.J., Stewart, D., Ferreira, R.B. e Santos, C.N. (2010) Antioxidant and antiproliferative properties of strawberry tree tissues. *Journal of Berry Research* 1: 3–12
- Tenhunen, J.D., Lange, O.L., Braun, M. (1981) Midday Stomatal Closure in Mediterranean Type Sclerophylls Under Simulated Habitat Conditions in an Environmental Chamber. II. Effect of the Complex of Leaf Temperature and Air Humidity on Gas Exchange of *Arbutus unedo* and *Quercus ilex*. *Oecologia (Berl)* 50: 5-11
- Tenhunen, J.D., Lange, O.L., Jahner, D. (1982) The Control by Atmospheric Factors and Water Stress of Midday Stomatal Closure in *Arbutus unedo* Growing in a Natural Macchia. *Oecologia (Berl)* 55: 165-169
- Valente, A., Albuquerque, T.G., Sanches-Silva, A., Costa, H.S. (2011) Ascorbic acid content in exotic fruits: A contribution to produce quality data for food composition databases. *Food Research International* 44: 2237–2242
- Waterhouse, A. L. (2002) Determination of Total Phenolics. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. I1.1.1- I1.1.8. John Wiley & Sons, Inc.

Wright, H., Nichols, D. (2006) Evaluating the accountability of trunk size and canopy volume models for determining apple tree production potential across diverse management regimes. *Acta Horticulturae* 707: 237-243

Anexos

Anexo 1 – Curva de calibração do ácido gálico.



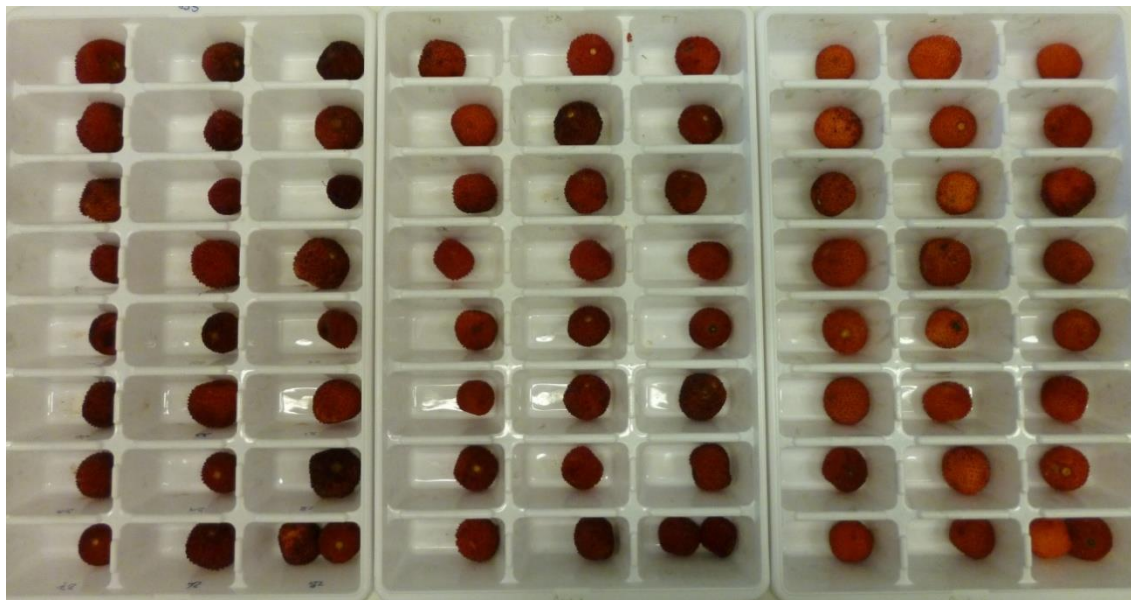
Anexo 2 - Aspeto dos medronhos da experiência I (vermelhos, vermelhos claros e amarelos, respectivamente) no dia 29/10/2013.



Anexo 3 - Aspeto dos medronhos da experiência I (vermelhos, vermelhos claros e amarelos, respectivamente) no dia 31/10/2013.



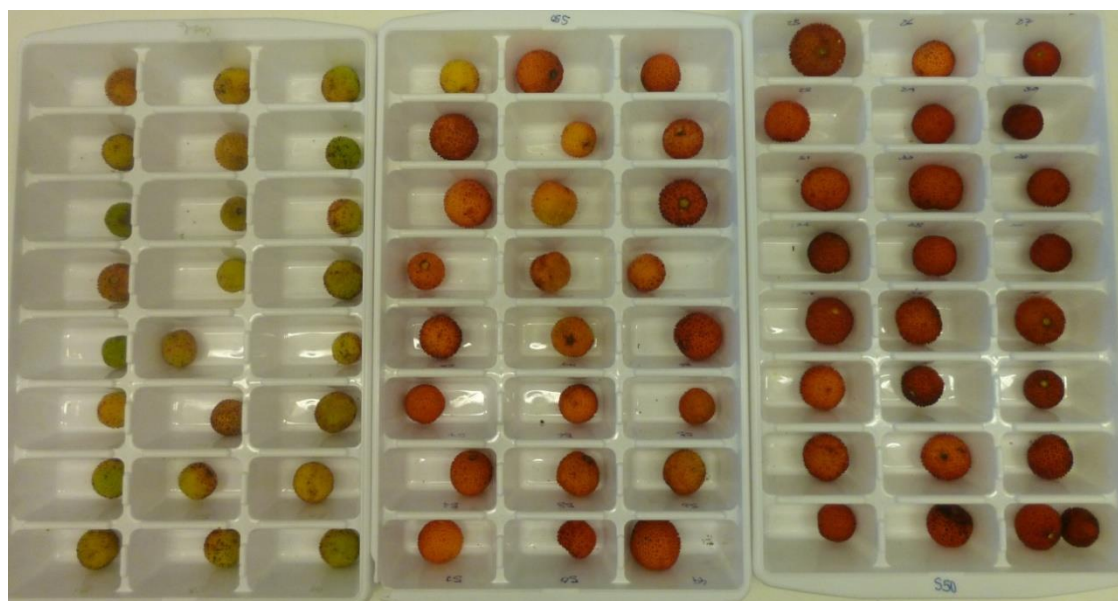
Anexo 4 - Aspeto dos medronhos da experiência I (vermelhos, vermelhos claros e amarelos, respectivamente) no dia 04/11/2013.



Anexo 5 - Aspeto dos medronhos da experiência II (verdes, amarelos e vermelhos claros, respectivamente) no dia 06/11/2013.



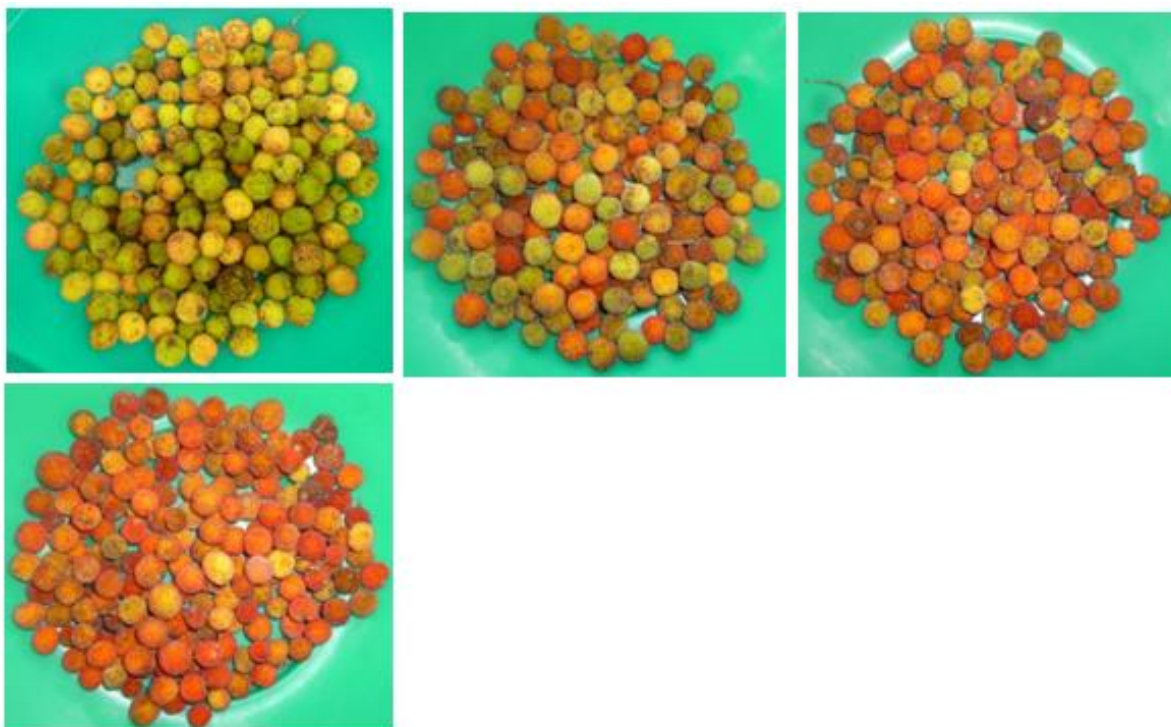
Anexo 6 - Aspeto dos medronhos da experiência II (verdes, amarelos e vermelhos claros, respectivamente) no dia 08/11/2013.



Anexo 7 - Aspeto dos medronhos da experiência II (verdes, amarelos e vermelhos claros, respectivamente) no dia 11/11/2013.



Anexo 8 – Evolução do aspeto dos medronhos verdes da experiência II (dias 11, 15, 19 e 21 de Novembro de 2013, respectivamente).



Anexo 9 – Processo de extração da polpa dos medronhos verdes (medronhos cortados, medronhos após trituração com “varinha mágica” *Braun*, medronhos triturados em pano crú e extração da polpa para gobelé, respectivamente).

